VOL. 113
IANUARIE - MARTIE
2009
ISSN: 0048-7848
Nr. 1

REVISTA MEDICO-CHIRURGICALĂ

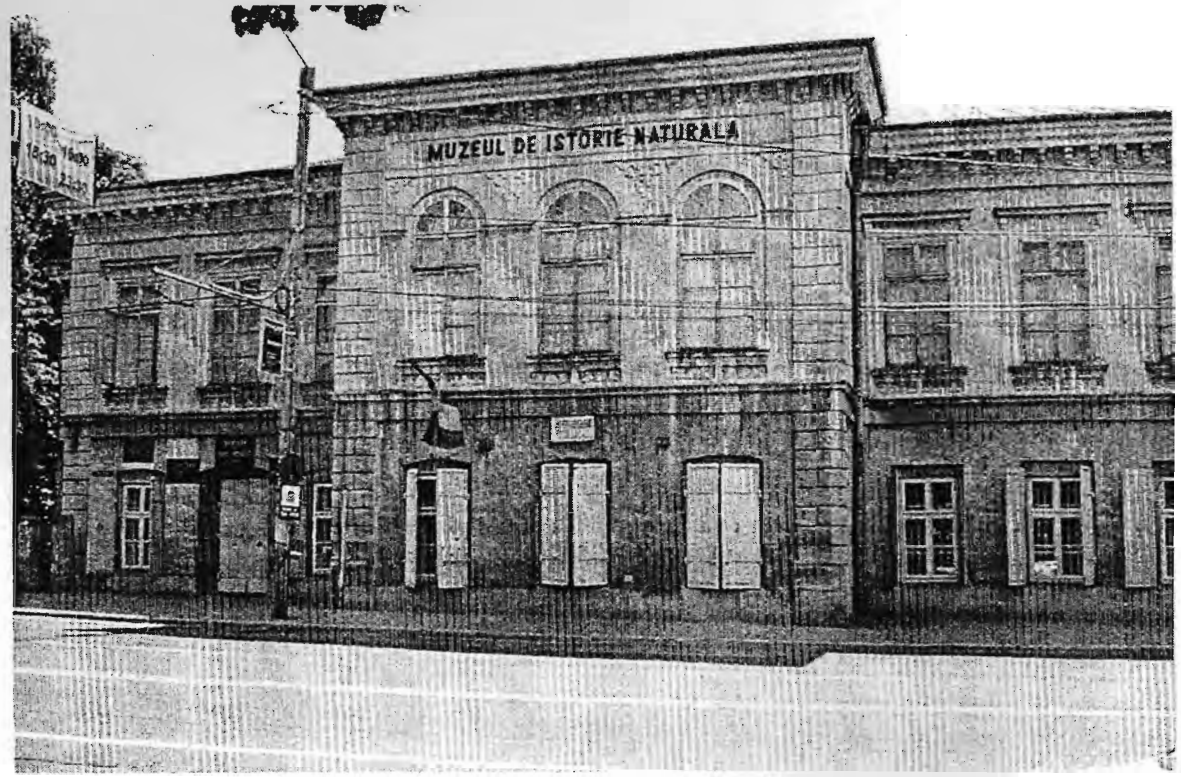
A SOCIETĂȚII DE MEDICI ȘI NATURALIȘTI DIN IAȘI

SIGILLUM SOCIETATIS MEDICINALIS ET NATURÆ CURIOSORUM IN PRINCIPATUM MOLDAVIÆ
SEMPER ALTIUS

Revista este inclusă în
INDEX MEDICUS
și în MEDLINE

Dorim să stabilim schimburi cu alte publicaţii.
On désire établir l'échange avec d'autres publications.
We wish to establish exchange with other publications.
Wir wünschen mit anderen Herausgaben den Austausch einzurichten.
Desideriamo stabilire scambio con alte publicazioni.
Déseamos establecer intercambio con otras publicaciones.

Revista Medico-Chirurgicală a fost fondată în anul 1887, primul număr apărând în luna ianuarie.
Revista Medico-Chirurgicală was establish in 1887, the first issue come out in January.



Sediul Societăţii de Medici şi Naturalişti Iaşi

COMITETUL
SOCIETĂŢII DE MEDICI ŞI NATURALIŞTI IAŞI

PREŞEDINTE
CAROL STANCIU

VICEPREŞEDINŢI
CORNELIU DIACONU, NORINA CONSUELA FORNA,
GEORGE IOAN PANDELE, VALERIU RUSU, MIRCEA ZAMFIR

SECRETAR
CONSTANTIN IORDACHE

TREZORIER
AUREL IVAN

CENZORI
ELENA BUTNARU, GHEORGHE COSTĂCHESCU, ŞTEFAN LĂCĂTUŞU

PREŞEDINŢI DE ONOARE
IOAN HAULICĂ, GHEORGHE SCRIPCARU, ALLA VÂŢĂ

PREŞEDINŢII SECŢIILOR ŞI CERCURILOR

SECŢII
Ovidiu Brumaru
Elena Butnaru
Gheorghe Costăchescu
Corneliu Diaconu
Norina Consuela Forna
Anca Irina Galaction
Viorica Gavăt
Ioana Grigoraş
Traian Mihăescu
Maria Sultana Mihailovici
Doina Mihalache
Gheorghe Vasile Moscaliuc
Mihai Nechifor
George Ioan Pandele
Dumitru Păduraru
Liviu Pendefunda
Gheorghe Petrescu
Carol Stanciu

CERCURI
Vasile Astărăstoae
Eduard Bild
Rodica Marieta Chiriac
Vasile Chiriţă
Dorin Chiseliţă
Vasile Costinescu
Constantin Eremia Cotrutz
Eusebiu Vlad Gorduza
Jan Hurjui
Nicolae Ianovici
Dan Mârţu
Ostin Costel Mungiu
Dragoş Negru
Zenaida Petrescu
Georgeta Siniţchi
Felicia Ştefanache
Eusebie Zbranca

REVISTA MEDICO-CHIRURGICALĂ
A SOCIETĂŢII DE MEDICI ŞI NATURALIŞTI DIN IAŞI

THE MEDICAL-SURGICAL JOURNAL
PHYSICIANS AND NATURALISTS SOCIETY, IAŞI, ROMANIA

EDITOR / PUBLISHER: Societatea de Medici şi Naturalişti din Iaşi

COLEGIUL EDITORIAL / ADVISORY BOARD

Monica Acalovschi - Cluj-Napoca
Cătălina Arsenescu-Georgescu - Iaşi
Dumitru Buiuc - Iaşi
Eugen Carasevici - Iaşi
Dorin Chiseliţă - Iaşi
Roxana Chiriţă - Iaşi
Constantin Ciufecu - Bucureşti
Tudorel Ciurea - Craiova
Vasile Costinescu - Iaşi
Maria Covic - Iaşi
Mihai Dan Datcu - Iaşi
Leon Dănăilă - Bucureşti
Vasile Dorneanu - Iaşi
Cristian Dragomir - Iaşi
Mircea Grigorescu - Cluj-Napoca
Ion Haulică - Iaşi
Jean Maublant - Clermont-Ferrand
Traian Mihăescu - Iaşi
Evelina Moraru - Iaşi
Dan Niculescu - Iaşi
Constantin Romanescu - Iaşi
Adrian Săftoiu - Craiova
Viorel Scripcariu - Iaşi
Ion Sporea - Timişoara
Carol Stanciu - Iaşi
Ursula Stănescu - Iaşi
Cristinel Ştefănescu - Iaşi
Eugen Târcoveanu - Iaşi
Anca Trifan - Iaşi
H. Van Damme - Liège

COLEGIUL DE REDACŢIE / EDITORIAL BOARD

Redactor şef
Valeriu Rusu
Redactori şefi adjuncţi
Doina Azoicăi, Adrian Covic, Norina Consuela Forna, Gabriel Ungureanu
Secretar de redacţie
Lucian Laurenţiu Indrei
Redactori
Mihaela Munteanu, Ioana Dana Alexa, Corina Dima-Cozma, Simona Manea, Camelia Cojocariu, Emil Anton, Radu Dănilă, Radu Moldovanu, Cipriana Ştefănescu, Carmen Lăcrămioara Zamfir, Eusebiu Vlad Gorduza, Carmen Pânzaru, Florin Dumitru Petrariu, Irina-Draga Căruntu, Gianina Iovan, Irina Grădinaru, Anca Miron, Cristina Gabriela Tuchiluş, Alexandru Dan Ciochină, Gheorghe Iacob

E-mail
rev_med_chir@yahoo.com

Site
www.revmedchir.ro

Vol. 113/2009, Nr. 1

REVISTA MEDICO-CHIRURGICALĂ
A „SOCIETĂŢII DE MEDICI ŞI NATURALIŞTI" DIN IAŞI

REDACŢIA ŞI ADMINISTRAŢIA: IAŞI, BULEVARDUL INDEPENDENŢEI 16, 700098
Cont Banca Comercială Română filiala Iaşi RO72RNCB0175033604340001
Telefon 0232-216772; e-mail: rev_med_chir@yahoo.com

SUMAR

EDITORIAL

V. Rusu: O selecţie din descoperirile ştiinţifice ale anului 2008 9

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

ACTUALITĂŢI

M. Covic, Maria Covic: Progrese recente în patogenia moleculară şi în tratamentul bolilor renale polichistice 13
F. Mitu, D. Rădoi: Inhibitorii enzimei de conversie a angiotensinei. Indicaţii actuale 23
N.M. Panduru, Laura Ioana Chivu, R.D. Chivu, Ioana Anca Bădărău, D.F. Albu, Simona Fica, Daniela Adriana Ion: Pubertatea, sarcina, sexul şi statusul hormonal - posibili factori de risc pentru nefropatia diabetică 32
Elena Cristina Mitrofan: Ventilaţia noninvazivă: cum, când şi de ce? 42
Luciana Rotaru, A. Rotaru, Cristiana Geormăneanu, Diana Cimpoeşu: Evacuarea medicală - parte integrantă a managementului prespitalicesc a pacientului traumatizat 48
Maria-Roxana Şova, R.P. Dobrin, V. Chiriţă: Aspecte privind incidenţa şi prevalenţa formelor de demenţă vasculară 53

ARTICOLE ORIGINALE

C. Huţanaşu, C. Sfarti, Anca Trifan, Camelia Cojocariu, A. Şpac, M. Apostu, L. Miron, V. Dorneanu, C. Stanciu: Detectarea micotoxinelor hepatotoxice la pacienţii cu ciroză hepatică 59
Celina Stafie: Diagnosticul insulinorezistenţei şi valoarea sa predictivă asupra bolilor cardiovasculare şi a diabetului 64
Cristina Hoţoleanu, Maria Dronca, Eleonora Dronca, R. Rusu, A. Andercou: Hiperhomocisteinemia - factor de risc în trombozele venoase profunde. Un studiu de tip case-control 68
Elena Rezuş, Anca Grigoriu, C. Rezuş: Caracterul agresiv al artritei reumatoide cu anticorpi anti peptid ciclic citrulinat prezenţi 73
Mioara-Maria Ţigău, Elena Rezuş, Alina Manole, Mioara Matei, A. Ivan: Cercetări clinico-epidemiologice asupra evoluţiei internărilor pentru spondilită anchilozantă în Clinica de Reumatologie şi Recuperare medicală, Spitalul de Recuperare Iaşi, în perioada 1990-2007 79
G. Oancă, C. Petraru, Maria Oancă: Contribuţii la monitorizarea veziculei biliare litiazice într-un ambulator şi într-un serviciu de gastro-enterologie din Bacău 84
A.C. Străulea, V. Chiriţă: Studiu clinic asupra cazurilor de dependenţă la benzodiazepine spitalizate în perioada 2006-2008 89
Irina Efrosă, Ingrid Miron, I. Tansanu: Particularităţi evolutive şi terapeutice ale bolii Hodgkin la copilul mic 93

CAZURI CLINICE

J.K. Triantafillidis, E. Merikas, G. Malgarinos, V. Panteris, G. Peros: Acute Idiopathic Pancreatitis Preceding Diagnosis of Crohn's Disease. Description of Three Cases ... 97
Ştefana Maria Moisă, Aurica Rugină, Evelina Moraru, Stela Goţia, M. Burlea: Agamaglobulinemie congenitală legată de X Bruton. Prezentare de caz 103

Elisabeth D. Riviello, K.C. Wang, M.E. Hochman, Al. Sariban, R.C. Da Rocha, Gr. Dogaru, K. Christopher: Vacuolization of Tubules in Gadolinium-Associated Acute Renal Failure 108
C. Iordache, Alina Luca, Doina Mihăilă, P. Plămădeală: Infarctul miocardic la copil. Caz clinic 116

TEHNICI ŞI METODE

A. Brezulianu, Monica Fira, E. Gazzi, L. Şorodoc: A Computerized Data Analysis Method for Electrogastrogaphyc Signals 120

CHIRURGIE

ACTUALITĂŢI

Iulia Munteanu, S. Ştefan, Mirela Sîrbu-Boeti, R. Popescu, Ioana Burcoveanu, Roxana Topală, C. Burcoveanu: Consideraţii asupra etiopatogeniei fistulelor digestive externe postoperatorii 125

ARTICOLE ORIGINALE

Daniela Mihaela Dumitru, M. Onofriescu, A. Cărăuleanu, Doiniţa Rădulescu: The Endovaginal Ultrasound Findings of a Thin and Regular Endometrium Is Uncommon in Endometrial Cancer 132
D. Mihalcea, D. Aursulesei: Invazia miometrială - factor de prognostic în adenocarcinomul endometrial 136
Camelia Cristina Cojocaru, Mihaela Grigore, Ana Cristina Anton, Simona Muscă, Gh. Costăchescu: Cancerul mamar la pacienta diabetică 140
G. Băciuţ, Mihaela Băciuţ, A. Iancu, Ileana Mitre, S. Dudea, Mândra Badea, Diana Dudea, S. Bran, C. Dinu, H. Rotaru: Tratamentul malformaţiilor vasculare arterio-venoase de flux înalt ale mandibulei 145
Alexandrina Pascal, N. Dobromir, Luminiţa Ivan: Aspecte clinico-morfologice în carcinomul urotelial papilar noninvaziv dezvoltat pe papilom urotelial inversat de vezică urinară 150

CAZURI CLINICE

C. Botez, G. Aprodu, Laura Candussi, V. Munteanu: Tratamentul pseudoartrozei aseptice de cubitus prin metoda Ilizarov la un pacient cu hemipareză spastică 154

TEHNICI ŞI METODE

A.B. Ionaşcu, G. Bănceanu, Zenovia Pricop, T. Spircu, Livia Sandu: Istmopexia Dan Alessandrescu şi tehnica autorului în prolapsul de gradul III asociat cu incontinenţă urinară la effort şi prolaps de boltă vaginală. Studiu comparativ 159

ŞTIINŢE FUNDAMENTALE

ACTUALITĂŢI

Cătălina Peptu, Anca Jătariu, Anca Indrei, M. Popa: Noi tendinţe în eliberarea controlată de medicamente - lipozomi imobilizaţi în matrici polimere 164

ARTICOLE ORIGINALE

Silvia-Lăcrămioara Roznovan, Doina Lucia Frâncu, Cornelia Amălinei, Doiniţa Rădulescu: Studiul regiunilor organizatoare nucleolare în tumorile prostatice 173
Elena Cojocaru, Irina Luciana Dumitriu, B. Gurzu, Ioana Ştefania Ciureanu, Maria Dinca, M. Costuleanu, Simona Mihaela Slătineanu, Brigitte Scutaru, Gh. Petrescu: Adenosine Involvement on Bronchial Reactivity Modulation by Diesel Exhaust 180
Diana Lăcătuşu, V. Rusu: Studiul deformabilităţii eritrocitare prin metode optice 185

MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR

ARTICOLE ORIGINALE

Simona Magdalena Petrache, Egidia Miftode, Daniela Leca, Olivia Dorneanu, V. Luca: Particularităţi clinice şi microbiologice ale infecţiilor cu *Staphylococcus aureus* în Spitalul de Boli infecţioase Iaşi 192

Aurelia Cordeanu, Elena-Mihaela Cordeanu, D.Al. Diaconescu: Obezitatea şi relaţiile de grup la adolescenţi 197
Cristina Petrescu, Maria Antal, Oana Suciu, R. Bagiu, T.R. Olariu: Factori de risc în apariţia cariilor dentare - consumul de dulciuri şi băuturi acidulate 206
Costinela Georgescu, F.D. Petrariu, L.L. Indrei, Viorica Gavăt: Studiu comparativ asupra aportului de nutrienţi energetici la persoanele vârstnice instituţionalizate din municipiul Galaţi 211
C. Botez, Maria Liliana Iliescu, Georgeta Zanoschi: Studiu retrospective privind profilul clinico-epidemiologic al infecţiei cu virus hepatitic B şi virus hepatitic C la 34 militari internaţi în Spitalul Militar de Urgenţă "Dr. Iacob Czihac" Iaşi 217

MEDICINĂ DENTARĂ

ARTICOLE ORIGINALE

Stela Carmen Hanganu, Alice Murariu: Eficienţa unor agenţi antimicrobieni asupra microorganismelor din salivă 221
Mihaela Sălceanu, Maria Vataman, T. Hamburda, Liana Aminov, C. Topoliceanu, R. Vataman: Studiu longitudinal privind eficienţa tratamentelor endodontice conservatoare pe un lot de dinţi cu leziuni periapicale cronice 227
Cristiana Balog, Mihaela Băciuţ, G. Băciuţ: Actualităţi în reabilitarea complexă cu ajutorul implantelor orale osteointegrate 231
Gianina Iovan, I. Dănilă, M. Caba, C. Topoliceanu, Angela Ghiorghe, S. Andrian: Influenţa expansiunii higroscopice asupra restaurărilor realizate cu un compozit nanohibrid 235
Iulia Mirela Nunchievici, Şt. Lăcătuşu: Studiu privind evaluarea riscului cariogen la un lot de pacienţi diabetici 241
R.S. Campian, Mihaela Băciuţ, G. Băciuţ, Lucia Hurubeanu, Ondine Lucaciu, Cristiana Balog, S. Bran, H. Dinu, H. Rotaru, B. Crişan: Durerea şi calitatea vieţii. Evaluări în sănătatea orală 246
Daniela Anistoroaei: Analiza radiografiei panoramice în diagnosticul asimetriei cranio-maxilo-faciale 250

FARMACIE

ARTICOLE ORIGINALE

Mihaela Pascu, Gabriela-Elena Agafiţei, Lenuţa Profire, Cornelia Vasile: Degradation of PVC / HC Blends. II. Terrestrial Plant Growth Test 257
Anca Toiu, E. Muntean, Ilioara Oniga, O. Voştinaru, M. Tămaş: Pharmacognostic Research on *Viola tricolor* L. (*Violaceae*). 264
Mariana Mândrescu, A.F. Şpac, V. Dorneanu: Determinarea spectrofotometrică în vizibil a piroxicamului folosind ca reactiv fericianura ferică 268
Georgeta Rusu, Lenuţa Profire, Gh. Dănilă: Benzimidazo-pirimidino-imidazo-tiadiazine farmacologic active 274

BIONGINERIE MEDICALĂ

ACTUALITĂŢI

Al.D. Ciochină, O. Bredeţean, Daniela-Cristina Dumitru, Gh. Iacob: O evaluarea asupra metodelor de apreciere a hemocompatibilităţii nanoparticulelor magnetice 279

ARTICOLE ORIGINALE

Petruţa Flocea, M. Popa, Fl. Munteanu, Liliana Vereştiuc: Collagen-hydroxiapatite Composites with Applications as Bone Substitutes: Synthesis and Characterisation 286
Fl. Munteanu, I. Poeată: Modelarea biomecanică a generării anevrismelor cerebrale 293

VARIA

L. Domnişoru: Evoluţionism şi creaţionism 299

IN MEMORIAM

Corina Nacu: Prof. Dr. Veaceslav Carasevici 301

CONTENTS

EDITORIAL

V. Rusu: 2008 Scientific Descoveries Selection 9

INTERNAL MEDICINE - PEDIATRICS

UPDATES

M. Covic, Maria Covic: Recent Advances in Molecular Pathogenesis and Polycystic Kidney Disease Treatment 13
F. Mitu, D. Rădoi: Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors. Current indications 23
N.M. Panduru, Laura Ioana Chivu, R.D. Chivu, Ioana Anca Bădărău, D.F. Albu, Simona Fica, Daniela Adriana Ion: Puberty, Pregnancy, Gender and Hormonal Status – Putative Risk Factors for Diabetic Nephropathy 32
Elena Cristina Mitrofan: Non Invasive Ventilation: How, When and Why? 42
Luciana Rotaru, A. Rotaru, Cristiana Geormăneanu, Diana Cimpoeşu: Medical Evacuation – Part of Prehospital Management of Trauma Patient 48
Maria-Roxana Şova, R.P. Dobrin, V. Chiriţă: Aspects Regarding the Incidence and Prevalence of Vascular Dementia Forms 53

ORIGINAL PAPERS

C. Huţanaşu, C. Sfarti, Anca Trifan, Camelia Cojocariu, A. Şpac, M. Apostu, L. Miron, V. Dorneanu, C. Stanciu: High blood and Urine Concentration of Hepatotoxic Mycotoxins (Aflatoxin B1, Sterigmatocystin) in Patients with Liver Cirrhosis 59
Celina Stafie: Insulin-resistance Diagnosis and Its Predictive Value on Cardiovascular Disease and Diabetes 64
Cristina Hoţoleanu, Maria Dronca, Eleonora Dronca, R. Rusu, A. Andercou: Hyperhomocysteinemia, Risk Factor in Deep Thrombosis. A Case Control Study 68
Elena Rezuş, Anca Grigoriu, C. Rezuş: The Aggressive Feature of the Rheumatic Arthritis with the Anticyclic Citrulinated Peptide Antibodies Positive 73
Mioara-Maria Ţigău, Elena Rezuş, Alina Manole, Mioara Matei, A. Ivan: Clinical Epidemiological Research on Evolution of Admissions for Ankylosing Spondilitis in the Clinic of Rheumatology and Medical Rehabilitation, Hospital of Rehabilitation Iaşi, Between 1990-2007 79
G. Oancă, C. Petraru, Maria Oancă: Contribution to Gallstones Monitoring in an Ambulator and Gastroenterology Section from Bacău City 84
A.O. Străulea, V. Chiriţă: Clinical Study on the Cases of Benzodiazepines Dependence Hospitalised Between 2006-2008 89
Irina Efrosă, Ingrid Miron, I. Tansanu: Evolution and Therapeutic Particularities of Children Hodgkin's Disease 93

CASE REPORTS

J.K. Triantafillidis, E. Merikas, G. Malgarinos, V. Panteris, G. Peros: Acute Idiopathic Pancreatitis Preceding Diagnosis of Crohn's Disease. Description of Three Cases 97
Ştefana Maria Moisă, Aurica Rugină, Evelina Moraru, Stela Goţia, M. Burlea: X-linked Bruton Congenital Agammaglobulinemia. Case Report 103
Elisabeth D. Riviello, K.C. Wang, M.E. Hochman, Al. Sariban, R.C. Da Rocha, Gr. Dogaru, K. Christopher: Vacuolization of Tubules in Gadolinium-Associated Acute Renal Failure 108

C. Iordache, Alina Luca, Doina Mihăilă, P. Plămădeală: Myocardial Infarction in Children. Case Report 116

TECHNIQUES AND METHODS

A. Brezulianu, Monica Fira, E. Gazzi, L. Şorodoc: A Computerized Data Analysis Method for Electrogastrogaphyc Signals 120

SURGERY

UPDATES

Iulia Munteanu, S. Ştefan, Mirela Sîrbu-Boeti, R. Popescu, Ioana Burcoveanu, Roxana Topală, C. Burcoveanu: Postoperative Digestive Fistulas. Etiopathogenic Considerations 125

ORIGINAL PAPERS

Daniela Mihaela Dumitru, M. Onofriescu, A. Cărăuleanu, Doiniţa Rădulescu: The Endovaginal Ultrasound Findings of a Thin and Regular Endometrium Is Uncommon in Endometrial Cancer 132
D. Mihalcea, D. Aursulesei: IMyometrial Invasion As a Prognostic Factor in Endometrial Adenocarcinoma 136
Camelia Cristina Cojocaru, Mihaela Grigore, Ana Cristina Anton, Simona Muscă, Gh. Costăchescu: Breast Cancer in Diabetic Patients 140
G. Băciuţ, Mihaela Băciuţ, A. Iancu, Ileana Mitre, S. Dudea, Mândra Badea, Diana Dudea, S. Bran, C. Dinu, H. Rotaru: Treatment of Arterio-venous High-flow Vascular Malformations of the Mandible 145
Alexandrina Pascal, N. Dobromir, Luminiţa Ivan: Clinical and Morphological Aspects in a Non-invasive Papillary Urothelial Carcinoma Low Grade, Developed on a Bladder Urothelial Inverted Papilloma 150

CASE REPORTS

C. Botez, G. Aprodu, Laura Candussi, V. Munteanu: Treatment of Aseptic Ulnar Non-union in a Patient with Spastic Hemiparesis by Ilizarov Method 154

TECHNIQUES AND METHODS

A.B. Ionaşcu, G. Bănceanu, Zenovia Pricop, T. Spircu, Livia Sandu: Dan Alessandrescu's Istmopexy Technique and Author's Technique in Grade III Genital Prolapse with Effort Urinary Incontinence and Vaginal Vault Prolapse. Comparative Study 159

BASIC SCIENCES

UPDATES

Cătălina Peptu, Anca Jătariu, Anca Indrei, M. Popa: New Tendencies in Controlled Drug Release - Liposomes Entrapped in Polymer Matrices 164

ORIGINAL PAPERS

Silvia-Lăcrămioara Roznovan, Doina Lucia Frâncu, Cornelia Amălinei, Doiniţa Rădulescu: Study of Nucleolar Organizer Regions in Prostate Cancer 173
Elena Cojocaru, Irina Luciana Dumitriu, B. Gurzu, Ioana Ştefania Ciureanu, Maria Dinca, M. Costuleanu, Simona Mihaela Slătineanu, Brigitte Scutaru, Gh. Petrescu: Adenosine Involvement on Bronchial Reactivity Modulation by Diesel Exhaust 180
Diana Lăcătuşu, V. Rusu: Studying Erythrocyte Deformability by Optical Methods 185

PREVENTIVE MEDICINE - LABORATORY

ORIGINAL PAPERS

Simona Magdalena Petrache, Egidia Miftode, Daniela Leca, Olivia Dorneanu, V. Luca: Clinical and Microbiological Characteristics of *Staphylococcus aureus* Infections in Infectious Disease Hospital Iaşi 192
Aurelia Cordeanu, Elena-Mihaela Cordeanu, D.Al. Diaconescu: Obesity and Group Relations at Teenagers 197

Cristina Petrescu, Maria Antal, Oana Suciu, R. Bagiu, T.R. Olariu: Risk Factors of Dental Decay - Sweet and Acid Food Consumption 206
Costinela Georgescu, F.D. Petrariu, L.L. Indrei, Viorica Gavăt: Comparative Study About the Intake of Energetic Nutrients at Elderly Institutionalized Persons from Galaţi City 211
C. Botez, Maria Liliana Iliescu, Georgeta Zanoschi: Clinical and Epidemiological Profile of Hepatitis B and C Virus Infection: A 34 Soldiers Hospitalized in a Military Hospital Retrospective Study 217

DENTAL MEDICINE

ORIGINAL PAPERS

Stela Carmen Hanganu, Alice Murariu: The Efficiency of Some Antibacterial Agents on Bacteria from Saliva 221
Mihaela Sălceanu, Maria Vataman, T. Hamburda, Liana Aminov, C. Topoliceanu, R. Vataman: Longitudinal Study Regarding the Efficacy of Conservative Endodontic Treatments in Chronic Periapical Lesions 227
Cristiana Balog, Mihaela Băciuţ, G. Băciuţ: Updates in Complex Oral Rehabilitation with Oral Osteointegrated Implants 231
Gianina Iovan, I. Dănilă, M. Caba, C. Topoliceanu, Angela Ghiorghe, S. Andrian: The Influence of Hygroscopic Expansion on Nanohybrid Composite Restauration 235
Iulia Mirela Nunchievici, Şt. Lăcătuşu: Risk Assessment in a Group of Diabetic Patients 241
R.S. Campian, Mihaela Băciuţ, G. Băciuţ, Lucia Hurubeanu, Ondine Lucaciu, Cristiana Balog, S. Bran, H. Dinu, H. Rotaru, B. Crişan: Pain and Life Quality. Evaluations in Oral Health 246
Daniela Anistoroaei: Panoramic Analysis in Diagnosis of Cranio-Maxillo-Facial Asymmetries 250

PHARMACY

ORIGINAL PAPERS

Mihaela Pascu, Gabriela-Elena Agafiţei, Lenuţa Profire, Cornelia Vasile: Degradation of PVC / HC Blends. II. Terrestrial Plant Growth Test 257
Anca Toiu, E. Muntean, Ilioara Oniga, O. Voştinaru, M. Tămaş: Pharmacognostic Research on *Viola tricolor* L. (*Violaceae*) 264
Mariana Mândrescu, A.F. Şpac, V. Dorneanu: Determination in Visible of Piroxicam Using Ferric Ferricyanide as Reagent 268
Georgeta Rusu, Lenuţa Profire, Gh. Dănilă: Benzimidazo-pyrimidino-imidazo-thiadiazines Pharmacologically Active 274

MEDICAL BIOENGINEERING

UPDATES

Al.D. Ciochină, O. Bredeţean, Daniela-Cristina Dumitru, Gh. Iacob: Considerations on *In Vitro* and *In Vivo* Magnetic Nanoparticles Hemocompatibility Testing 279

ORIGINAL PAPERS

Petruţa Flocea, M. Popa, Fl. Munteanu, Liliana Vereştiuc: Collagen-hydroxiapatite Composites with Applications as Bone Substitutes: Synthesis and Characterisation 286
Fl. Munteanu, I. Poeată: Biomechanical Modelling of Cerebral Aneurysm Generation 293

VARIA

L. Domnişoru: Evolutionism and creationism 299

IN MEMORIAM

Corina Nacu: Prof. Dr. Veaceslav Carasevici 301

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

EDITORIAL

O SELECŢIE DIN DESCOPERIRILE ŞTIINŢIFICE ALE ANULUI 2008

Există o disparitate între cercetarea biomedicală fundamentală şi practica medicală, uneori denumită chiar fractură, a devenit tot mai evidentă în a doua jumătate a secolului trecut. În ultimii ani, chiar dacă relaţia fundamental-aplicativ nu are cum să fie armonioasă, din unele laboratoare de cercetare apar semne de apropiere, de realism. Poate şi pentru că obţinerea unor rezultate originale în domeniile cele mai promiţătoare, ca genomica, proteomica, metabolomica, fiziomica impune cheltuieli foarte mari şi eforturi imense ale cercetătorilor. Beneficiare aproape exclusive ale acestei direcţii sunt îndeosebi marile firme de medicamente, un moment de răspântie fiind premiul *Nobel* pentru *Medicină - 1988* acordat *"pentru descoperirea unor principii importante în tratamentul medicamentos"*, laureaţilor *Sir James Black - Marea Britanie, Gertrude B. Elion - SUA* şi *George H. Hitchings - SUA*. Ulterior s-a dovedit că farmacoterapia este singurul beneficiar cert şi constant al progreselor cunoaşterii la nivel molecular. Investiţiile uriaşe susţinute de unele firme, cu implicarea unor echipe de cercetare puternice, au dus la conflicte de interese, unele taxate ca fraudă ştiinţifică. Mari case farmaceutice au încercat să introducă în contractele de cercetare clauze care impuneau ca rezultatele să fie publicate după un aviz prealabil al finanţatorului, sau, şi mai rău, se sugera doar publicarea rezultatelor pozitive. Păcatul capital al cercetării farmaceutice decurge din faptul că finanţatorul este totodată şi beneficiar al rezultatelor, pe care le vrea adesea cu orice preţ, pozitive.

Este posibil ca anul 2008 să rămână ca unul de referinţă prin elaborarea în cadrul *NIH - Bethesda* (*National Institutes of Health, 27 de institute puternice, în care pluri- şi interdisciplinaritatea reprezintă o realitate*) a unui vast program de explorare a lumii microbiene în care *responsabilităţile de finanţare a cercetării sunt net separate de executarea programelor de cercetare*.

Ce alte evenimente ştiinţifice mai pot fi semnalate după scurgerea anului 2008?

O imagine de ansamblu asupra celor mai notabile rezultate din 2008 este posibilă datorită clasamentelor de genul *10 descoperiri ale anului* din toate ştiinţele, iniţiate de unele reviste ca *La Recherche* şi *Scientific American*. În clasamentul publicat în *La Recherche* se poate observa că jumătate dintre cele mai importante descoperiri provin din cercetarea biomedicală.

Pe primul loc se află o descoperire de cel mai larg interes, ***obţinerea grafenului*** (engl. *graphene*, franc. *graphène*) şi fabricarea din acesta a primilor tranzistori ultrarapizi. "*Grafenul este cel mai bun candidat pentru înlocuirea siliciului, permiţând astfel miniaturizarea extremă a tranzistorilor*" anunţa recent *Andre Geim*, directorul *Centrului de fizică mezoscopică şi de nanotehnologii* de la *Universitatea din Manchester - Marea Britanie*.

Grafenul deschide o nouă etapă în evoluţia computerelor, ca şi în multe alte domenii, inclusiv în medicină, prin utilizarea tranzistorilor din grafen.

Pe locul secund în clasament se află ***descoperirea primului virus care poate fi infectat de un alt virus***. Meritul principal îi revine grupului condus de *Didier Raoult* de la *Facultatea de Medicină* din *Marsilia* (publicaţie de referinţă: *D. Raoult, P. Forterre – "Redefining viruses: lessons from Mimivirus", Nature Reviews Microbiology*, 6, 315, 2008) dar istoria începe în 1992, în *Marea Britanie*, când la *Spitalul Bradford* a izbucnit o epidemie presupusă ca fiind de legioneloză. Istoria descoperirii este lungă şi ne referim doar la ultima etapă, care înseamnă descoperirea unui al doilea virus gigantic, denumit *Mamavirus*, în amibele pe care *Didier Raoult* le-a recuperat dintr-un sistem de climatizare parizian. *Mamavirusul* era însoţit de un virus mult mai mic, măsurând circa 50 nanometri. Un virus care pus în contact cu amibele este incapabil să le infecteze, el fiind dependent de *Mamavirus*. Inspirat, *Didier Raoult* propune un nou concept: *prin analogie cu bacteriofagii* (după cum se ştie, virusuri care infectează bacteriile) *micul virus* (botezat *Sputnik*) *ar fi un "virofag", adică un virus care infectează un alt virus*. Dacă analogia dintre *virofagi* şi *bacteriofagi* ar fi doar semantică descoperirea nu ar însemna mare lucru. În realitate conceptul de *virofag* pe lângă faptul că impune modificarea arborelui vieţii, prin adăugarea unei a patra ramuri, deschide o nouă cale, în cunoaşterea virusurilor, în terapia antivirală şi în descifrarea patologiei determinată de microorganisme.

Locul al treilea al palmaresului 2008 reprezintă chiar o surpriză: ***identificarea unor mutaţii genetice asociate cu autismul***. De când a fost descris în 1943 de psihiatrul american de origine austriacă *Leo Kanner* (1894-1981), *autismul* a declanşat o dezbatere care părea fără sfârşit: un copil se naşte sau devine ulterior naşterii bolnav? Termenul *autism* a fost creat de psihiatrul elveţian *Eugen Bleuler* (1857-1939) în anul 1911, în germană – *Autismus* din grecescul *autos – sine însuşi*. *Bleuler* a rămas în istoria psihiatriei îndeosebi prin introducerea termenului *schizofrenie*, boala pe care a studiat-o toată viaţa, definind conceptul de schizofrenie prin gruparea a patru procese psihopatologice fundamentale, primul fiind autismul. Tot în 1911, *Bleuler* propune adj. *Autistisch – autistic* cu sensul *„care aparţine autismului"*. Rapid, în 1913, *autism* şi *autistic* sunt adoptaţi în franceză – *autisme* şi *autistique*. Va urma asimilarea în engleză – *autism* şi *autistic*. Între timp definiţia sindromului s-a extins şi se vorbeşte despre *tulburări ale spectrului autistic* (TSA), care ar afecta un copil din două sute în *Europa occidentală* cu o tendinţă de creştere a numărului de cazuri. La noi în ţară, o afirmă unii specialişti, autismul este subdiagnosticat.

Extinderea spectrului autistic a condus, printre altele, şi la supoziţia implicării unor factori genetici. În 2003 au fost identificate primele mutaţii afectând două gene ale cromozomului X la doi fraţi, unul afectat de *autism*, iar celălalt de *sindrom Asperger*. Ambele gene codifică o proteină, neuroligina 3 şi, respectiv, neuroligina 4, implicată în funcţia sinapselor. Ceea ce a declanşat noi cercetări în această direcţie fiind descoperite încă trei proteine alterate prin mutaţii genetice, dereglând în consecinţă sinapsele. Să mai menţionăm, ba chiar superficial, obţinerea în 2008 a primelor modele animale purtătoare de mutaţii asociate autismului. În prezent se consideră că 28 % din cazurile de autism ar putea avea cauze genetice: 13% asociate cu mutaţii genetice sau cu variaţii ale numărului de copii ale genelor, 10% asociate cu boli genetice cunoscute şi 5% cu remanieri cromozomiale.

În clasamentul descoperirilor din anul 2008 urmează ***utilizarea celulelor iPS (celule suşă pluripotente induse) în testarea moleculelor terapeutice***. Obţinerea acestor celule este foarte recentă: cercetătorii japonezi *Shynia Yamanaka* şi *Kazutoschi Takahashi* de la *Universitatea* din *Kyoto* au reuşit să *"reprogrameze"* celulele adulte, denumite *celule iPS*, cu proprietăţi identice

cu ale celulelor suşă embrionare. În august 2008, două echipe de la *Harvard Stem Cell Institute* au anunţat un pas decisiv: "întinerirea" celulelor provenind de la bolnavi. În prezent, la *Harvard* obiectivul constă în crearea unei bănci de celule iPS reprezentative pentru un mare număr de boli în scopul testării într-un timp cât mai scurt a mii de molecule terapeutice.

Pe locul 8 se află descoperirea faptului că ***ARNi (ARN interferent) acţionează nu numai asupra expresiei genelor, ci şi asupra sistemului imunitar***, pe care îl activează. Ceea ce repune în discuţie (incitând la noi studii) importantul potenţial terapeutic al ARN-interferenţi. După cum se ştie, în anul 2006 americanii *Andrew Fire* şi *Craig Mello* au devenit laureaţi ai premiului *Nobel* pentru *Medicină* datorită descoperirilor lor privind interferenţa ARN – blocarea genelor de către ARN dublu catenar.

Nici locul 9 nu poate fi ignorat: ***descoperirea unei fosile umane (veche de 1,2 milioane de ani) la Atapuerca, în Spania,*** *relansează studiul populării Europei Occidentale.* Cum rămâne cu *Eva africană*? Să aşteptăm un răspuns în viitor.

În fine, descoperirea situată pe locul 10, ***embrioni umani obţinuţi prin clonarea celulelor pielii***, în ianuarie 2008, de un grup de cercetători ai companiei *Stemagen – California*, a avut un răsunet slab. Probabil şi pentru că în 2004-2005 *Woo-suk Hwang* de la *Universitatea* din *Seul* a publicat rezultate analoge, dar fondate pe date frauduloase. Ceea ce a făcut ca jurnaliştii şi cercetătorii să fie mai reticenţi. Dar şi deoarece clonajul uman a fost depăşit de o tehnică mai puţin restrictivă, *celulele iPS* (v. mai sus).

Speranţele din în anul 2009 în materie de cercetare biomedicală sunt numeroase. În locul unei enumerări, al unei liste seci, am ales doar *trei proiecte semnificative*.

Unul dintre cele mai importante proiecte ale anului 2009 a fost conceput de *Paul Allen*, cofondator al *Microsoft*. Înainte de toate, este remarcabil modul în care îşi susţine iniţiativa: *"Funcţionarea creierului uman este unul dintre misterele ştiinţifice cele mai fascinante. Noi suntem capabili să reperăm planete noi în jurul stelelor şi să găsim apă pe Marte, dar funcţionarea creierului rămâne neexplorată şi neexplicată în proporţie de 95 %"*. (cit. din anuarul *„Le Monde en 2009"*, editat de revistele *Courrier International* şi *The Economist*, p. 83). Să ne aducem aminte din articolele următoare publicate la această rubrică, sau să observăm direct din literatura ştiinţifică optimismul nejustificat al unor cercetători asupra stadiului cunoaşterii creierului.

Şansele de reuşită ale noului proiect sunt mari, deoarece *Paul Allen* a fondat încă din anul 2003 *Allen Institute for Brain Science* cu ajutorul unor cercetători foarte cunoscuţi în domeniu. Trei ani mai târziu aceştia au reuşit să termine atlasul de expresie genică a creierului de şoarece. Atlasul a fost pus la dispoziţia tuturor celor interesaţi, pe *Internet* şi gratuit. Această iniţiativă a stârnit o reacţie dominată de suspiciune printre cercetători, obişnuiţi să îşi protejeze descoperirile, îndeosebi când într-un studiu mai există un filon productiv, care ar putea fi exploatat de alţii.

În prezent *Paul Allen* şi grupul său se concentrează asupra celui mai complex proiect: *atlasul creierului uman*. Acum se colecţionează datele, chiar cele considerate mai puţin semnificative. Mai greu sunt obţinute datele primare, ce stau la baza unor descoperiri, mulţi cercetători preferând să nu le dezvăluie, asemenea maeştrilor în arta culinară care ţin ascunse mici secrete ale reţetelor proprii. Lucrul efectiv la atlasul creierului uman va începe în 2010 şi va dura patru ani. Această imensă bază de date va stimula cooperarea între diverse grupuri de cercetători şi, dacă nu va duce chiar la fraternitate, va mai diminua competiţia acerbă manifestată în prezent.

În acţiunea sa, în care mecenatul se asociază cu gândirea ştiinţifică, *Paul Allen* crede că: "*în următorii zece ani se va avansa mult în cunoaşterea interacţiunilor genetice responsabile de principalele boli ale creierului. Ceea ce va permite propunerea unor tratamente eficiente sub forma noilor medicamente sau a noilor metode de alterare a activităţii genelor*". Totodată "*stimulatorii cerebrali implantabili din noua generaţie vor fi larg utilizaţi pentru tratarea unor tulburări, de la depresie la boala Parkinson şi în addicţii.*" (art. cit. p. 83).

Pentru că la 28 februarie a fost *Ziua Internaţională a Bolilor Rare* se cuvine să semnalăm că după mulţi ani de cercetare şi mii de testări clinice, în 2009 vor fi disponibile medicamente împotriva bolilor rare. *Jean Piotrowski* (laureat 2008 al bursei ştiinţifice *Richard Cassement - „The Economist”*) susţine că în acest domeniu se produce o revoluţie medicală.

După 1989 au fost întreprinse în lume peste 1300 de studii clinice asupra unor terapii genice într-o serie de boli rare, dintre care unele au intrat în faza a III-a, etapă finală. Totuşi, nici un medicament din această categorie nu a fost autorizat. În lunile următoare ale anului 2009 situaţia se va schimba, foarte probabil, datorită comercializării a două produse: *Advexin* (produs de *Introgen - SUA*) destinat tratamentului cancerelor capului şi gâtului şi *Cerepro* (*Ark Terapeutics - Anglia*) având ca ţintă gliomul malign. Din motive de concizie menţionăm doar că în unele cazuri se utilizează ca vector al genelor utile un adenovirus. Un progres posibil în 2009 constă în prevenirea reacţiilor imunitare ce pot neutraliza vectorul viral. Soluţia este ingenioasă: punerea la punct a unui polimer de „camuflaj” care împiedică neutralizarea vectorilor virali, produs de societatea *Hybrid System*, posesoare a unui important portofoliu de brevete biotehnologice. Încât putem să-l credem pe *Jean Piotrowski*: "*terapia genică este în sfârşit pregătită să treacă din stadiul de eveniment supramediatizat în cel al practicii clinice.*"

Obezitatea sau, mai nou, "*sindromul obezităţii*" este înainte de toate o realitate fizică vizibilă prin cei care îşi duc surplusul de masă corporală, iar studiile ca şi remediile propuse ar putea alcătui o enciclopedie cu multe ambiguităţi.

Iată însă că în 2009 se poate contura mai net o nouă cale prin *studiul microbilor asociaţi organismului uman*. Începutul se datorează lui *Jeffrey Gordon*, de la *Universitatea Saint Louis - Washington* care a observat că prin modificarea microbismului intestinal la şoarece este influenţată creşterea în greutate. Mai mult, împreună cu echipa sa, a observat o corelaţie semnificativă între pierderea de greutate şi raportul (exprimat în procente) dintre genurile de bacterii *Firmicutes* şi *Bacteroidetes*. Aceste observaţii au stimulat cercetările asupra bacteriilor intestinale la om, care, pe lângă că majoritatea se află în curs de identificare, nu cresc în medii de cultură. De aceea s-a recurs la secvenţarea genomului bacterian, automatizată în prezent, care oferă informaţii suficiente pentru obţinerea unei *„cărţi individuale de identitate”*. Ceea ce permite punerea în evidenţă a diferenţelor dintre persoanele obeze şi cele cu masa corporală normală, precum şi dintre diferitele tipuri de obezitate. Nu este exclus ca urmând noua cale să se contureze şi soluţii în tratamentul obezităţii.

Încheiem această scurtă selecţie, cu speranţa că tot mai multe centre de cercetare de la noi din ţară vor fi incluse în proiecte de colaborare pe plan internaţional.

Prof. dr. Valeriu Rusu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE ACTUALITĂŢI

PROGRESE RECENTE ÎN PATOGENIA MOLECULARĂ ŞI ÎN TRATAMENTUL BOLILOR RENALE POLICHISTICE

M. Covic[1], Maria Covic[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1 Disciplina de Genetică umană
2 Clinica a IV-a Medicală-Nefrologie

RECENT ADVANCES IN MOLECULAR PATHOGENESIS AND POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE TREATMENT (Abstract): Polycystic kidney diseases (PKD) are common genetic disorders characterized by formation and progressive enlargement of cysts kidney, liver and other organs, leading to end stage renal disease. Regardless of the genetic defect underlying PKD, cystic epithelia seem to display common abnormalities: increased proliferation and apoptosis, loss of cellular differentiation and polarity, hypersecretion. The localization of multiples proteins, whose function are disrupted in PKD, in the primary cilium or at basal body at the base of the cilium highlight this neglected organelle as a common trigger of cystic diseases. Significant progresses have been made over the last few years towards a greater understanding of the molecular pathogenesis of cysts formation, particularly in the signaling pathways involved in cytogenesis: cAMP, mTOR, Wnt, Ras/MAPK. These advances have already brought several potential therapies targeting several key pathways of cystogenesis. **Key words**: POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE, CILIUM, SIGNALING PATHWAYS, CALCIUM, AMPc, mTOR, Wnt, MAPK

Bolile renale polichistice (PKD - de la *„polycystic kidney diseases”*) sunt boli sistemice, caracterizate prin manifestări renale (multiple dilataţii chistice bilaterale) şi extrarenale (hepatice, cardiovasculare, ş.a.). Chiştii renali apar în perioada intrauterină, evoluează progresiv (ca număr şi volum) producând nefromegalie şi în final insuficienţă renală cronică terminală (IRCT) (1). PKD sunt a treia cauză majoră de IRCT, fiind prezente la 7-10% din bolnavii dializaţi (2). PKD sunt boli cronice, relativ frecvente (prevalenţa medie 1 : 800 nn vii) (3) şi în marea lor majoritate se transmit ereditar, cu risc mare de recurenţă în familie. Datorită frecvenţei, afectării cronice multiviscerale şi evoluţiei inexorabile spre IRCT, care generează cheltuieli importante pentru îngrijirea bolnavilor, PKD reprezintă o problemă de sănătate publică. În aceste condiţii, profilaxia lor (prin screening genetic populaţional) şi identificarea unor *ţinte terapeutice,* care să blocheze apariţia sau progresia chiştilor, devin prioritare. Progresele recente în elucidarea etiopatogeniei moleculare a PKD fac posibile aceste acţiuni necesare (2,4,5).

Cercetările moleculare efectuate în ultimii 10 ani în PKD, la om şi la diferite modele animale, au dus la identificarea şi clonarea genelor mutante, analiza structurii şi funcţiei proteinelor codificate de aceste gene şi în final la descifrarea defectelor în căile de semnalizare, care generează apariţia chiştilor renali şi progresia lor.

Pe baza patogeniei moleculare, PKD au fost recent regrupate în două categorii distincte. *Prima grupă* este formată din: boala polichistică renală autosomal dominantă (ADPKD) - cea mai frecventă formă de PKD, boala polichistică renală autosomal recesivă (ARPKD), nefronoftiziile (NF) şi sindroamele cu chişti renali; toate aceste afecţiuni sunt generate prin *defecte diferite în acelaşi releu funcţional*, ce produce în final chiştii renali (2,3). *A doua grupă* (mai rară) include: boala renală chistică medulară şi boala renală glomerulo-chistică - care sunt produse prin stocarea *uromodulinei* (6).

MUTAŢIILE CARE PRODUC PKD

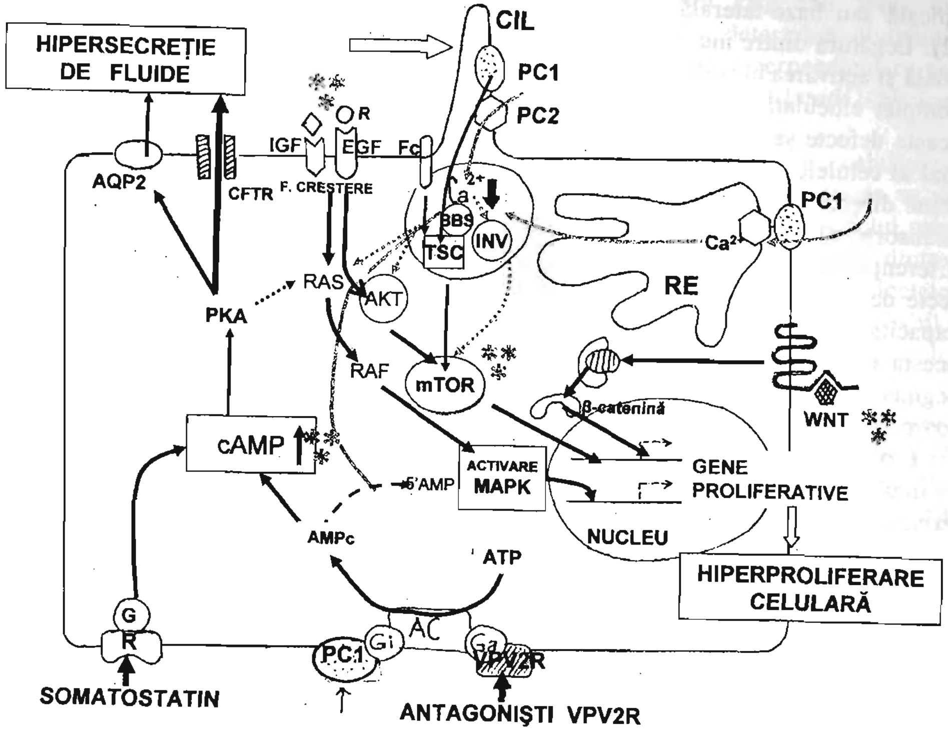
ADPKD este o boală ereditară dominantă, heterogenă, produsă de mutaţii în genele *PKD1* (cromozomul 16) - 85% din cazuri şi *PKD2* (cromozomul 4) - 15% din cazuri (1, 3); mutaţiile celor două gene determină manifestări clinice similare, însă mai puţin severe la pacienţii cu mutaţii în *PKD2* (3). Gena *PKD1* codifică *policistina-1* (PC1), o proteină transmembranară - cu funcţii de receptor (ligand necunoscut), senzor ciliar, adeziune celulară - iar *PKD2* codifică *policistina 2* (PC2) - un canal de calciu; PC1 şi PC2 se asamblează şi acţionează împreună în mai multe procese de semnalizare (2, 3). **ARPKD** este o afecţiune ereditară recesivă, determinată de mutaţii în gena *PKHD1*, ce codifică fibrocistina/poliductina (FC), o proteină transmembranară ce reglează expresia/funcţia PC2 (7,8). **Nefronoftiziile** (6 tipuri) sunt produse de mutaţii în genele *NPHP1-6*, ce codifică nefrocistinele (NC) 1-6, cu roluri multiple în funcţia ciliară, adeziunea celulară şi calea de semnalizare Wnt (3). Sindroamele cu chişti renali: Bardet-Biedl, Oro-facio-digital 1, scleroza tuberoasă, Meckel-Gruber ş.a. - sunt produse de mutaţii în diferite gene, care codifică proteine ce interacţionează cu PC1 sau FC, NC - formând un *releu funcţional comun*.

Deşi etiologic şi clinic ADPKD şi ARPKD sunt aparent boli diferite, patogenic ele sunt mult mai *asemănătoare* decât se credea anterior, deoarece genele care produc, prin mutaţie, aceste boli cooperează pentru a asigura morfologia normală a tubilor renali (9). Foarte recent s-a demonstrat că există o legătură directă între ADPKD şi NF, prin interacţiunea dintre proteinele mutante din aceste boli (10). A devenit astfel evident că *ADPKD, ARPKD şi NC sunt produse prin defecte diferite în acelaşi releu funcţional*, ce determină în final chiştii renali (2,8, 9,10)

IPOTEZA CILIARĂ

Multe din proteinele codificate de genele mutante în PKD - policistinele, fibrocistina, nefrocistinele ş.a. - sunt localizate (fig. 1) în cilul primar (PC-1 şi PC-2 mai sunt situate şi la nivelul joncţiunilor celulă-celulă şi celulă-matrice; PC2 se mai găseşte în reticulul endoplasmic şi fusul mitotic; defectele PC în aceste locaţii pot explica apariţia manifestărilor extrarenale ale PKD: chişti în ficat, splină, pancreas, tiroidă, vezicule seminale, anevrisme intracraniene, alte anomalii cardiovasculare, HTA prin activarea SAAR, endotelinei şi vasopresinei) al celulelor epiteliale ale tubilor renali (situat la polul apical, spre lumenul tubular) sau corpusculului său bazal / centrozom (corpusculul bazal formează polii fusului de diviziune în mitoză, conectând astfel ciliogeneza cu reglarea ciclului celular) (2, 3,11,13). Acest fapt sugerează că *disfuncţia ciliară poate fi o anomalie comună ce produce transformarea chistică* (12,13).

Date recente au demonstrat că *cilul primar funcţionează ca un mecanosensor şi chemosensor* (14). Fluxul intraluminal de fluide produce îndoirea cililor primari (imobili) şi *stimulează complexul PC1/PC2* („mecano-transductorul"), care *eliberează semnale* în citoplasmă (de ex., creşterea intracelulară a Ca^{2+}, activarea inversinei, blocarea beta-cateninei, represia CDK2); aceste semnale *activează sau reprimă mai multe căi de semnalizare* interconectate (implicând calciu intracelular, AMPc, proteinele-G, STAT (STAT = *signal transducers and activators of transcription*) 6, mTOR, Wnt) necesare pentru menţinerea structurii normale a nefronului; ele produc în nucleu: modificarea expresiei genice, reglarea ciclului celular, diferenţierea şi funcţia normală a epiteliului tubular sau repararea leziunilor renale (2,3,15,16).



PC1 - policistina 1; PC2 - policistina 2; Fc - fibrocistina; BBS - proteine din sindromul Bardet-Biedl; TSC - proteine (tuberina, hamartina) din scleroza tuberoasă; INV - inversina sau nefrocistina 2; EGF - factor de creştere epitelial; IGF - factor de creştere insulin-like; AQP2 - aquaporina 2; R - receptor cuplat cu proteina G; VPV2R - receptorul V2 a vasopresinei; RE - reticul endoplamic; PKA - protein-kinaza A; AKT- protein-kinaza B; AC - adenilciclaza; MAPK - *mitogen-activated protein kinase*; mTOR - *mammalian target of rapamicyn*; WNT - cale de semnalizare ce implică produsele morfogenelor Wg şi Int. *Activare

Fig. 1. Defecte în căile de semnalizare, mediate de cilul primar al celulelor epiteliale din tubii renali, ce produc chişti renali (prin hiperproliferare celulară şi hipersecreţie de fluide)

Defecte în formarea cililor, sinteza proteinelor ciliare (PC1/PC2, FC ş.a.) sau centrozomale (NC, tuberina şa.) sau perturbarea căilor de semnalizare spre nucleu - produc PKD, prin hiperproliferare celulară şi hipersecreţie de fluide (fig. 1). Cu toate că mecanismele patogenice nu sunt complet elucidate este evident că toate bolile chistice renale au o patogenie comună: defecte diferite în calea/releul de semnalizare mediat de cili (8,9,13,15,16).

PATOGENIA FORMĂRII CHIŞTILOR

Studiile de genomică funcţională au demonstrat că mutaţiile genelor PKD produc: creşterea proliferării celulelor şi apoptozei, perturbarea migrării şi adeziunii celulare şi alterarea polarităţii celulelor (localizarea apicală sau bazo-laterală a unor proteine) (2). Legătura dintre mutaţiile cauzatoare de boală şi activarea chistogenezei nu este încă complet elucidată (16) dar se ştie că prin aceste defecte se trece de la fenotipul normal al celulelor epiteliale ale tubilor renali (bine diferenţiat, nonproliferativ, polarizat, neabsorbant) la fenotipul celular chistic (dediferenţiat parţial, hiperproliferativ, cu defecte de polarizare şi adeziune, secretor şi capacitate de concentrare redusă). În felul acesta apar şi cresc progresiv chişti în toate segmentele tubilor renali şi canalelor colectoare (1,3,15,17).

Procesul de chistogeneză se desfăşoară în două faze: *iniţierea formării chiştilor şi expansiunea lor* (2,16).

1. Iniţierea formării chiştilor începe în perioada fetală şi continuă lent dar progresiv toată viaţa, fiind *determinată de mutaţiile genelor PKD*. Ele produc trei fenomene corelate: (a) creşterea proliferării celulare; (b) anomalii ale diferenţierii normale a celulelor epiteliale tubulare (dediferenţiere); (c) anomalii a interacţiunilor celulă-celulă şi celulă-matrice (18).

a) Hiperproliferarea celulelor epiteliale tubulare este cel mai precoce fenomen ce duce la apariţia fenotipului chistic (fiind asociată cu creşterea apoptozei). Din acest punct de vedere, PKD în general şi ADPKD în special se aseamănă cu neoplaziile benigne; de aceea blocarea proliferării celulare este cea mai bună ţintă terapeutică în PKD (4,5,19,20,21).

Hiperproliferarea este generată de *activarea a trei căi majore de semnalizare* (fig. 1) - calea Wnt / β catenină, calea mTOR (mTOR = *mammalian target of rapamycin* (kinază care stimulează proliferarea celulară)) şi calea Ras/MAPK (sau Ras/B-Raf/MEK/ERK) (MAPK sau MEK = *mitogen-activated protein kinase*. ERK = *extracellular regulated kinase)* - care vor produce în nucleu hiperexpresia genelor proliferative *c-jun, c-fos, c-myc* şi *ciclina D*; la aceste căi de semnalizare se adaugă activarea CDK2/ciclina E (prin defecte în PC1) (în mod normal, PC1 inhibă activitatea CDK2 oprind celulele în faza G1/Go) (18, 20,22).

(1). Activarea ectopică a căii Wnt (căile de semnalizare Wnt au roluri esenţiale în dezvoltarea embrionară, (migrare şi proliferare celulară), diferenţiere (determinarea „destinului" celular), organizarea ţesuturilor şi arhitectura organelor, creştere renală şi regenerare celulelor adulte (reînoirea celulelor stem). Semnalizarea Wnt este esenţială pentru dezvoltarea renală (23) (în mod normal represată), prin domeniul intracitoplasmatic al PC1, va duce la eliberarea de β-catenină care, după translocarea în nucleu, se cuplează cu factori de transcripţie şi *stimulează* genele proliferative (23,24) (fig. 1);

(2). Activarea căii mTOR (în mod normal represată) este determinată de defecte în PC1 şi alte proteine chistice din cilul primar sau centrozomul său; ele stimulează *tuberina* (produsul genei *TSC2* ce determină scleroza tuberoasă) care, prin GTPaza *Rheb*, activează kinaza mTOR producând creşterea proliferării celulare (fig. 1). Activarea mTOR ar putea fi un punct de convergenţă a pierderii funcţiei ciliare prin mecanisme diferite (inclusiv prin factori de creştere) în multiple afecţiuni chistice (18, 25,26,27).

(3). Activarea căii Ras/MAPK (sau Ras/B-Raf/MEK/ERK) se poate face în bolile polichistice prin mai multe mecanisme interconectate (fig. 2): (1) creşterea AMPc, secundară reducerii Ca^{2+} intracelular (prin defecte ale PC1/PC2), (2) sinteza crescută a unor factori de creştere (EGF, IGF-1) şi a receptorilor lor (EGF-R sau ErB2-R), exprimaţi anormal pe membrana apicală a celulelor epiteliale tubulare (18,19); (3) stimularea Akt (protein kinaza B) prin scăderea Ca^{2+} (produsă de alterarea PC1) (20).

Elucidarea acestor căi de semnalizare, care duc la creşterea proliferării celulelor epiteliale tubulare a permis identificarea unor *„ţinte terapeutice"* şi folosirea unor molecule ce le blochează proliferarea şi, deci, apariţia şi progresia chiştilor renali (21,28).

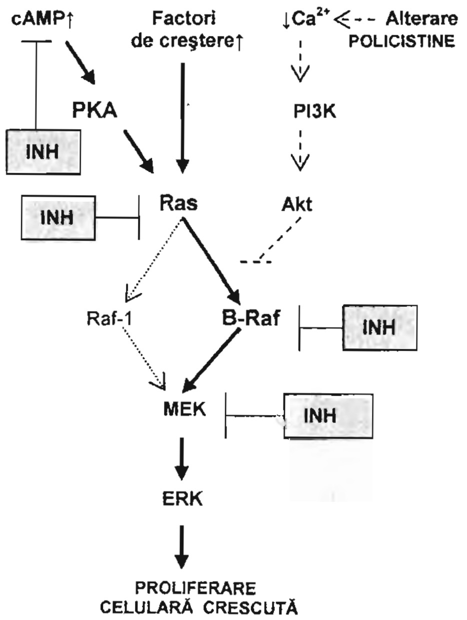


Fig. 2. Activarea căii proliferative Ras/B-Raf/MEK/ERK prin defecte ale policistinelor, creşterea nivelului AMPc sau expresia crescută a factorilor de creştere EGF şi IGF. „Ţintele terapeutice" ce pot produce inhibarea (INH) căii

b) Anomaliile diferenţierii normale a celulelor epiteliale tubulare (dediferenţiere) se realizează prin:

(1) *alterarea polarităţii celulare* apical-bazolaterală - determină localizarea aberantă la polul apical (luminal) a unor proteine membranare (factori de creştere, receptori, transportori / canale ionice, enzime) (2,16,18);

(2) perturbarea „comunicării intercelulare" - ce determină „polaritatea celulară planară" (PCP), prin care diviziunile celulare au loc *paralel* cu axul antero-posterior al tubului renal şi determină alungirea lui (24,29); *alterarea polarităţii celulare planare"* (prin anomalii cale căii Wnt) în bolile chistice renale determină diviziuni celulare *aleatorii*, uneori perpendiculare pe axul tubului, producând *dilataţii chistice* (prin proliferare focală (24,29).

c) Anomalii în interacţiunile celulă-celulă şi celulă - matrice. Policistinele au şi alte localizări celulare, în afara cilului primar, la joncţiunile dintre celule sau dintre celule şi matricea extracelulară. Defectele acestor proteine determină, foarte probabil, manifestările extracelulare, în special cele cardio-vasculare (1,2,16,18,19).

2. Expansiunea chiştilor renali este *independentă* de mutaţiile genelor PKD, se produce mai *tardiv* şi este *progresivă*. Există foarte probabil o cale comună pentru toate formele de PKD, care generează creşterea intracelulară a AMPc; acest fapt deschide „o fereastră" spre noi intervenţii terapeutice (27,28).

Expansiunea chiştilor este produsă de creşterea secreţiei intrachistice de fluide (fig. 1) prin: (a) poziţionarea apicală (anormală) şi hiperexpresia CFTR (canalul pentru clor), aquaporinelor şi pompei Na$^+$/K$^+$; (b) creşterea nivelului de AMPc (determinată de: reducerea intracelulară a Ca^{2+}; alterarea semnalizării receptorilor celulari cuplaţi cu proteina G pentru hormoni; (c) hipersecreţia de vasopresină, secundară defectelor de concentrare urinară, are un rol major în expansiunea chiştilor (pe calea receptorilor V2 care stimulează adenilatciclaza şi creşte AMPc) (2,16,18,30,31).

Creşterea AMPc produce hipersecreţie de fluide, prin activarea canalului de clor şi blocarea aquaporinelor. Scăderea nivelului intracelular a AMPc (inclusiv prin blocarea V2R sau scăderea secreţiei de vasopresină au devenit una din „ţintele terapeutice" majore în PKD (32).

Expansiunea chiştilor distruge parenchimul renal adiacent printr-un proces complex ce implică; trans-diferenţierea celulelor epiteliale, depunere de colagen, modificări inflamatorii şi reducerea vascularizaţiei (3,18,20).

VARIABILITATEA FENOTIPICĂ

Numeroase studii clinice au demonstrat o mare variabilitate fenotipică (de manifestare) inter- şi intra-familială (1,3,33) privind debutul, intensitatea, diversitatea manifestărilor clinice, severitatea PKD, manifestările extra-renale şi progresia spre IRCT. Elucidarea cauzelor genetice şi negenetice ale acestei mari variabilităţi fenotipice poate genera indicatori prognostici mai fideli.

Cauzele genetice ale variabilităţii fenotipice sunt reprezentate de: (a) *eterogenitatea genelor* implicate (mutaţiile genei PKD1 produc forme mai severe decât mutaţiile genei PKD2; (b) *poziţia mutaţiilor alelice* (în ADPKD: mutaţiile în regiunea 5' a genei determină forme severe; în ARPKD: mutaţii nonsens mai severe (cel puţin asupra fibrozei hepatice) faţă de cele missens; (c) *intervenţia genelor modificatoare:* ACE-I; CFTR; eNOS; TSC2 (33). În aceste condiţii testele moleculare vor deveni cu siguranţă repere prognostice fidele (34).

Cauzele negenetice – sunt reprezentate de *factori hormonali* (evidenţi în ADPKD unde formele mai severe se întâlnesc la bărbaţi iar afectarea hepatică este mai frecventă la femei şi creşte cu expunerile la estrogeni. Important este că variabilitatea fenotipică este generată şi de *factori de mediu*, ce pot fi controlaţi (cafeina creşte nivelul AMPc, fumatul are un rol nociv iar obezitatea, mai ales la bărbaţi, produce o progresie mai rapidă a bolii) (1,3,33).

PROGRESIA PKD SPRE IRCT

Cei mai mulţi dintre bolnavii cu PKD (de ex. 50-70% din cei cu ADPKD) evoluează inexorabil spre IRCT (2,3,15). IRCT se produce la 50-60 de ani, atunci când mărimea rinichilor este de cel puţin cinci ori mai mare decât normal (35). Dar, aceasta evoluţie nu este obligatorie, fiind condiţionată de intervenţia unor factori de risc: tipul de gene PKD, sexul, proteinuria şi prezenţa HTA; ei se corelează cu rata creşterii rinichilor în ADPKD (1). Problema esenţială este însă identificarea cauzelor ce determină progresia spre IRCT deoarece acestea ar putea fi „ţinte terapeutice". Cercetările recente (5,15,19) au dus la identificarea unor posibile cauze: (a) distrugerea parenchimului renal prin *expansiunea chiştilor* ce induc apoptoza ţesutului sănătos; (b) creşterea *fibrozei interstiţiale* – cale comună tuturor nefropatiilor – prin transformarea celulelor interstiţiale în mioepiteliale şi depunerea de colagen; (c) modificări inflamatorii şi reducerea vascularizaţiei (3,19). Totuşi, dezvoltarea IRCT la circa 60% din pacienţii cu ADPKD rămâne neclară.

NOI MARKERI PENTRU APRECIEREA PROGRESIEI PKD

Identificarea *markerilor de progresie* este esenţială pentru a evalua evoluţia spre IRCT dar mai ales pentru determinarea corectă a efectelor potenţiale ale unei posibile terapii. Recent (35), studiul CRISP (*Consortium of Radiologic Imaging Study*) a stabilit că măsurarea anuală (prin RMN seriate) a volumului renal, creşterii chiştilor şi fluxului sanguin renal – se corelează cu rata filtrării glomerulare şi severitatea bolii, detectând modificări semnificative ale progresiei bolii (13,15,35).

NOI ŢINTE TERAPEUTICE ÎN ADPKD

Bolile chistice renale erau considerate defecte ereditare *netratabile.* Descifrarea recentă a patogeniei moleculare a PKD a dus însă la identificarea unor ţinte terapeutice, în special în ADPKD. ADPKD este cea mai frecventă formă de PKD (1:800 persoane), care debutează morfopatologic perinatal, evoluează progresiv şi devine manifestă clinic la 30-40 de ani şi, de cele mai multe ori, se termină cu IRCT (necesitând terapie de supleire sau transplant renal). În aceste condiţii orice tratament de stopare a apariţiei şi/sau evoluţiei chiştilor ar reprezenta un beneficiu enorm. Recent au fost validate pe modele animale şi introduse în testarea clinică noi terapii bazate pe inhibarea proliferării celulare (în special a căilor mTOR sau MAPK) a AMPc intracelular şi a sistemului renină-angiotensină (4,5,15,28,36).

1. Inhibarea proliferării celulare

Proliferarea celulară este evenimentul cel mai precoce în achiziţia fenotipului chistic. Înţelegând mai bine mecanismele care generează hiperproliferarea (fig. 1) s-au evaluat (mai întâi pe modele animale cu PKD şi apoi în trialuri clinice, aflate în diferite faze) mai multe terapii potenţiale, cu mare şansă de a deveni „operaţionale" (4,5,19,20,21,22,28).

a) Inhibitori RAS şi RAF

În PKD – prin creşterea AMPc, activarea EGF, scăderea Ca^{2+} – se produce o activarea a căii Ras/B-Raf/MEK /ERK (care reglează expresia ciclinei D1), producând hiperproliferarea celulelor epiteliale (fig. 2). Terapia experimentală cu inhibitori de MEK pe modele animale cu PKD a produs blocarea chistogenezei (19,28,37,38).

b) Inhibitori EGF şi IGF sau blocanţi ai receptorilor EGF

Factorii de creştere (EGF şi IGF) sau receptorii lor sunt supraexprimaţi şi localizaţi anormal la polul apical al celulelor epiteliale. Inhibiţia EGFR atenuează formarea chiştilor în modelele animale cu PKD (19,28,39,40).

c) Inhibitori ai căii mTOR

În celulele chistice se produce o activare a mTOR (*mammalian target of rapamycin*) – o kinază care stimulează proliferarea celulară şi translaţia proteinelor. Rapamicina (Sirolimus) (folosit în terapia imunosupresivă după transplant de organe) inhibă mTOR, scade proliferarea celulară (oprirea ciclului celular în G1) şi creşte apoptoza, producând blocarea progresiei chiştilor şi regresia mărimii rinichilor (4,25,26,41).

d) Inhibitori ai CDK2/ciclina E

În chistogeneză se produce precoce o dereglare a relaţiei dintre cili şi ciclul celular ce generează hiperproliferarea celulară. Roscovitina (Seliciclib) (un medicament anti-canceros cu administrare orală ce nu produce efectele adverse ale citostaticelor) – este un inhibitor selectiv a kinazelor dependente de ciclină (precum şi al căii Raf/MEK/ERK) şi al apoptozei. Experimentele efectuate pe modele animale cu PKD arată că roscovitina normalizează nivelul mai multor cicline, prevenind astfel proliferarea celulară, şi ameliorează progresia chiştilor prin inhibiţia trasncripţiei şi apoptozei (4,5,43,44). Roscovitina este un medicament anti-canceros cu administrare orală ce nu produce efectele adverse ale citostaticelor (!) şi are acţiune de lungă durată deşi se aplică o perioadă scurtă. Se pare că Roscovitina se impune în arsenalul terapeutic actual al PKD ca o terapie „ideală de primă linie" (43).

2. Inhibarea secreţiei

a) Reducerea nivelului AMPc – implicat atât în proliferare cât şi în secreţia de fluide (32) – prin: antagonişti ai receptorilor V2 ai vasopresinei; somatostatin; ingestie mai mare de apă.

(1) În ADPKD se produce o acumulare crescută de AMPc (prin scăderea Ca^{2+} sau sub acţiunea ADH), care prin canalul clor (dependent de AMPc) creşte secreţia de fluide. Antagoniştii receptorilor V2 (exprimaţi de celulele chistice) şi în special tolvaptanul (un medicament folosit deja în insuficienţa cardiacă congestivă, bine tolerat de pacienţi) scad AMPc şi produc o regresie spectaculoasă a chiştilor la animale cu PKD (30,32) şi la om (trialuri clinice faza II-B, III – efecte benefice, fără efecte adverse majore) (4,5).

(2) O abordare alternativă pentru reducerea nivelului anormal al AMPc este folo-

sirea somatostatinului care inhibă producerea de AMPc indusă de vasopresină şi permeabilitatea apei acţionând prin receptorii 1 şi 2 cuplaţi cu proteina G1 (5,45).

(3) Recent s-a demonstrat că prin ingestia mai mare de apă se reduce nivelul vasopresinei plasmatice (prin scăderea expresiei V2R) şi se încetineşte progresia bolii la şobolanii cu PKD (31,47). Această abordare terapeutică validată prin cercetări foarte recente (31) pare surprinzătoare deoarece apa este „remediul" unor boli ereditare care umplu rinichii cu ... apă.

3. Restaurarea eliberării intracelulare de Ca^{2+}

Defectele în PC2 (canal de calciu) sau PC1 (proteina sa reglatoare) diminuă nivelul intracelular al Ca^{2+} şi activează diferite căi de semnalizare ce produc chişti renali prin hiper-proliferarea celulelor epiteliale tubulare şi hiper-secreţie de fluide. Recent s-a demonstrat că triptolidul, un diterpen activ biologic, produs natural (izolat dintr-o viţă de vie medicinală *Tripterygium wilfordii*), folosit (ca citostatic, antiinflamator etc.) în medicina tradiţională din China, induce eliberarea de Ca^{2+} printr-un mecanism dependent de PC2, opreşte creşterea celulară şi reduce progresia chiştilor (pe modele animale cu PKD) (48).

CONCLUZII

Cu toate progresele extraordinare din ultimii cinci ani în descifrarea patogeniei moleculare a PKD, mai există încă probleme neclare privind progresia chiştilor şi progresia insuficienţei renale.

Au apărut însă terapii cu efecte potenţiale benefice care inhibă proliferarea celulară şi hipersecreţia, blocând apariţia şi progresia chiştilor. Experimentate pe modele animale cu PKD ele se află în diferite faze ale trialurilor clinice. Cercetările viitoare vor trebui să determine cele mai eficiente tratamente în PKD (dozaj, moment de începere etc.), care vor include probabil mai multe clase de medicamente, combinate sau alternative.

În terapia PKD se vede deja o „luminiţă la capătul tunelului" (28) dar mai este de parcurs ... tunelul. Anii următori vor fi „excitanţi" atât pentru pacienţii cu PKD cât şi pentru medici. Cert este că în acest domeniu de patologie, veritabilă problemă de sănătate publică, medicina actuală a demonstrat că ... este moleculară şi eficace.

BIBLIOGRAFIE

1. Covic M, Covic A. *Boala polichistică renală autosomal dominantă (ADPKD)*. Iaşi : Ed. Polirom, 1999.
2. Torres VE, Harris PC. Mechanisms of disease : autosomal dominant and recessive polycystic kidney disease. *Nat Clin Pract Nephrol* 2006 ; 2 : 40-55.
3. Wilson DP. Polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2004 ; 350 : 151-164.
4. Ibraghimov-Beskrovnaya O. Molecular pathogenesis of ADPKD and development of targeted therapeutic options. *Nephrol Dial Tansplant* 2007 ; 22 : 3367-3370.
5. Chapman AB. Autosomal dominant polycystic kidney disease : time for a change ? *J Am Soc Nehprol* 2007 ; 18 : 1399-1407.
6. Scolari F, Caridi G, Rampoldi L et al. Uromodulin storage diseases : clinical aspects and mechanisms. *Am J Kid Dis* 2004 ; 44 : 987-999.
7. Ward CJ, Hogan MC, Rossetti S et al. The gene mutated in autosomal recessive polycystic kidney disease encodes a large, receptor-like protein. *Nat Genet* 2002 ; 30 : 259-269.
8. Kim I, Fu I, Hui K et al. Fibrocystin/Polyductin modulates renal tubular formation by regulating polycystin-2 expression and function. *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 : 455-468.

9. Kaimori J, Germino GG. ARPKD and ADPKD : first cousins or more distant relatives. *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 : 416-418.
10. Cai Y, Somlo S. Too much of a good thing : does Nek8 link polycystic kidney disease and nephronophtisis. *Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 : 418-420.
11. Pan J, Wang Q, Snell WJ. Cilium-generated signalling and cilia-related disorders. *Lab Invest* 2005 ; 85 : 452-463.
12. Pazour GJ. Intraflagellar transport and cilia-dependent renal disease : the ciliary hypothesis of polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2004 ; 15 : 2528-2536.
13. Yoder BK. Role of primary cilia in the pathogenesis of polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2007 ; 18 : 1381-1388.
14. Nauli SM, Alenghat FJ, Luo Y et al. Polycystins 1 and 2 mediate mecanosensation in the primary cilium of kidney cells. *Nat Genet* 2003 ; 33 : 129-132.
15. Igarashi P, Somlo S. Polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2007 ; 18 : 1371-1373.
16. Calvet JP, Grantham JJ. The genetics and physiology of polycystic kidney disease. *Semin Nephrol* 2001 ; 21 : 107-123.
17. Smith LA, Bukanov NO, Husson H et al. Development of polycystic kidney disease in juvenile cystic kidney mice : insights into pathogenesis, ciliary abnormality and common features with human disease. *J Am Soc Nephrol* 2006 ; 17 : 2821-2831.
18. Ong ACM, Harris PC. Molecular pathogenesis of ADPKD : the polycystin complex get complex. *Kidney Int* 2005 ; 67 : 1234-1247.
19. Simons M, Walz G. Polycystic kidney disease : cell division without a c(l)ue ? *Kidney Int* 2006 ; 70 : 854-864.
20. Nelson PJ, Shamki SJ. Therapeutics in renal disease : the road ahead for antiproliferative targets. *Nephron Exp Nephrol* 2006 ; 103 : e6-e15.
21. Bello-Reuss E. Inhibition of tubule-cell proliferation to prevent cyst formation : a new avenue to treat ADPKD ? *Kidney Int* 2007 ; 72 : 135-137.
22. Weimbs T. Polycystic kidney disease and renal injury repair : common pathways, fluid flow and the function of polycystin-1. *Am J Physiol Renal Phsyol* 2007 ; 293 : F1423-F1432.
23. Benzing T, Simons M, Walz G. Wnt signalling in polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2007 ; 18 : 1389-1398.
24. Simons M, Gloy J, Ganner A et al. Inversin, the gene product mutated in nephronophthisis type II, function as a molecular switch between Wnt signalling pathways. *Nat Genetic* 2005 ; 37 : 537-543.
25. Mostov KE. mTOR is out of control in polycystic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 5247-5248.
26. Shillingford JM, Murcia NS, Larson CH et al. The mTOR pathway is regulated by polycystin-1 and its inhibition reverses renal cystogenesis in polycystic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci* 2006 ; 103 : 5466-5471.
27. Bukanov NO, Smith LA, Klinger KW, Ledbetter SR, Ibraghimov-Beskrovnaya O. Long lasting arrest of murine polycystic kidney disease with CDK inhibitor roscovitine. *Nature* 2006 ; 444 : 949-952.
28. Walz G. Therapeutic approaches in autosomal polycystic kidney disease (ADPKD) is there a light at the end of the tunnel ? *Nephrol Dial Transplant* 2006 ; 21 : 1752-1757.
29. Fischer E, Legue E, Doyen A et al. Defective planar cell polarity in polycystic kidney disease. *Nat Genetic* 2005 ; 38 : 21-23.
30. Gattone VH, Maser RL, Tian C, Rosenberg JM, Branden MG. Developmental expression of urine concentration-associated genes and their altered expression in murine infantile type polycystic kidney disease. *Dev Genet* 1999 ; 24 : 309-318.
31. Wang W, Wu Y, Ward CJ, Harris PC, Torres VE. Vasopressin directly regulates cyst growth in polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 : 102-108.
32. Torres VE. Cyclic AMP at the hub of the cystic disease, *Kidney Int* 2004 ; 66 : 1283-1285.

33. Rossetti S, Harris PC. Genotype-phenotype correlation in autosomal dominant and autosomal recessive polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2007 ; 18 : 1374-1380.
34. Rossetti S, Consugar MB, Chapmann AB et al. Comprehensive molecular diagnostics in autosomal polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 17 : 2143-2160.
35. Grantham JJ, Torres VE, Chapman AB et al. Volume progression in polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2006 ; 354 : 2122-2130.
36. Calvet JP. MEK Inhibition holds promise for polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2006 ; 17 : 1498-1500.
37. Yamaguchi T, Nagao S, Wallace et al. Cyclic AMP activates B-Raf and ERK in cyst epithelial cells from autosomal. *Kidney Int* 2003 ; 63 : 1983-1994.
38. Omori S, Hida M, Fujita H et al. Extracellular signal-regulated kinase inhibition slows disease progression in mice with. *J Am Soc Nephrol* 2006 ; 17 : 1604-1614.
39. Torres VE, Sweeney WE, Wang X et al. EGF receptor tyrosine kinase inhibition attenuates the development of PKD in Han : SPRD rats. *Kidney Int* 2003 ; 64 : 1573-1579.
40. Parker E, Newby LJ, Sharpe CC et al. Hyperproliferation of PKD1 cystic cells is induced by insuline-like growth factor activation of Ras/Raf signaling system. *Kidney Int* 2007 ; 72 : 157-165.
41. Qian Q, Du H, Kumar S et al. Sirolimus reduces polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 : 631-638.
42. Tao Y, Kim J, Faubel S et al. Caspase inhibition reduces tubular apoptosis and proliferation and slow progression in polycystic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102 : 3954-6959.
43. Kuehn W, Walz G. Prime time for polycystic kidney disease : does one shot o roscovitine bring the cure ? *Nephrol Dial Transplant* 2007 ; 22 : 2133-2135.
44. Ibraghimov-Beskrovnaya O. Targeting dysregulated cell cycle and apoptosis for polycystic kidney disease. *Cell Cycle* 2007 ; 6 : 776-779.
45. Ruggenenti P, Remuzzi A, Ondei P et al. Safety and efficacy of long acting somatostatin treatment in autosomal polycystic kidney disease. *Kidney Int* 2005 ; 68 : 206-216.
46. Nagao S, Nishii K, Katsuyama M et al. Increased water intake decreases progression of polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2006 ; 17 : 2220-2227.
47. Grantham JJ. Therapy for polycystic kidney disease? It's water, stupid. *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 : 1-7.
48. Leuenroth SJ, Okuhara D, Shotwell JD et al. Triptolide is a traditional Chinese medicine- derivated inhibitor of polycystic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 4389-4394.

NOUTĂŢI

OBSERVAŢII ÎNTÂMPLĂTOARE ÎN SCINTIGRAFIA MIOCARDICĂ DE PERFUZIE CU ^{99m}TC TETROFOSMIN

Timomul este o tumoră care se dezvoltă din timus şi se asociază cu *myastenia gravis*. Evaluarea sa imagistică include de rutină computer tomografia cu raze X (CT) care oferă date structurale. Posibilele localizări ectopice, în relaţie cu originea sa embrionară, sunt însă mai dificil de identificat. S-a observat că ^{99m}Tc tetrofosminul, un radiofarmaceutic utilizat în scintigrafia miocardică de perfuzie şi în scintigrafia tumorală, se fixează şi la nivelul timusului transformat tumoral. Descoperirea a fost întâmplătoare, în decursul scintigrafiei miocardice de perfuzie, dar poate conduce la utilizarea sistematică a scintigrafiei cu ^{99m}Tc tetrofosmin în diagnosticul imagistic funţional al timomului (Gratz S, Kempke B, Kaiser W, Behr TM, Pfestroff A, Höffken H. Unexpected ^{99m}Tc-tetrofosmin findings during myocardial perfusion scintigraphy : intraindividual comparison with PET/computed tomography. *Nucl Med Commun* 2008 ; 29 (11) : 963-969).

Cipriana Ştefănescu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINA INTERNĂ - PEDIATRIE **ACTUALITĂŢI**

INHIBITORII ENZIMEI DE CONVERSIE A ANGIOTENSINEI. INDICAŢII ACTUALE

F. Mitu[1], D. Rădoi[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1 Clinica a VI-a Medicală
Spitalul Clinic de Recuperare Iaşi
2 Clinica de Recuperare Medicală Cardio-Vasculară

ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME INHIBITORS. CURRENT INDICATIONS (Abstract) : Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors are a relatively homogenous drug class widely used today. They have been shown to reduce morbidity or mortality in congestive heart failure, myocardial infarction, chronic renal insufficiency, diabetes mellitus, and atherosclerotic cardiovascular disease. Pathologies underlying these conditions are partially attributable to the renin-angiotensin-aldosterone system. Angiotensin II contributes to endothelial dysfunction, altered renal hemodynamics, and vascular and cardiac hypertrophy. ACE inhibitors attenuate these effects. Clinical outcomes of ACE inhibition include lower incidence of fatal and nonfatal myocardial infarction, reinfarction, angina, stroke, end-stage renal disease, and morbidity and mortality associated with heart failure. ACE inhibitors are generally well tolerated and have few contraindications.

Key words : RENIN-ANGIOTENSIN-ALDOSTERONE SYSTEM, ACE INHIBITORS, HYPERTENSION TREATMENT

De la apariţia lor în 1981 şi până în prezent, inhibitorii enzimei de conversie au cunoscut o evoluţie spectaculoasă în privinţa indicaţiilor lor în tratamentul bolilor cardiovasculare. Dacă la început erau folosiţi doar pentru tratamentul hipertensiunii refractare, astăzi inhibitorii enzimei de conversie ai angiotensinei (IECA) şi-au demostrat eficacitatea în reducerea morbidităţii şi mortalităţii în insuficienţa cardiacă cronică, infarctul miocardic, diabetul zaharat, insuficienţa renală cronică şi boala aterosclerotică vasculară, toate acestea fiind probleme majore de sănătate atât în România cât şi în lumea întreagă.

Sistemul renină-angiotensină exercită efecte generale precum şi locale. Efectul sistemic este declanşat la nivel renal de către scăderea volumului sangvin circulant şi începe cu secreţia de renină la nivelul corticalei renale. Odată eliberată, renina declanşează transformarea angiotensinogenului plasmatic în angiotensina I. La rândul ei angiotensina I (un decapeptid inactiv)

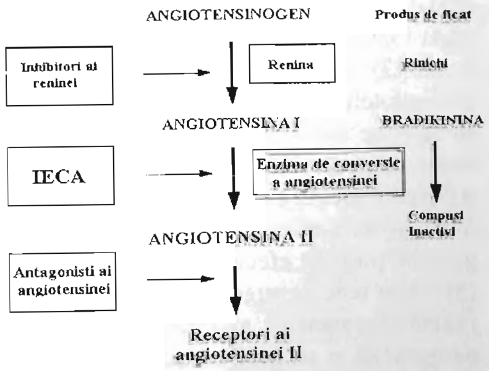


Fig. 1. Sistemul renină-angiotensină-aldosteron

TABELUL I

Efectele sistemice ale angiotensinei II şi beneficiile IECA

EFECTELE ANGIOTENSINEI II	BENEFICIILE INHIBIŢIEI ENZIMEI DE CONVERSIE
-creşte nivelul de norepinefrină (central şi periferic) -creşte consumul de oxigen -vasocontricţie coronară -creşte presarcina -creşte postsarcina -creşte masa ventriculară (prin factori de creştere) -determină hipertrofia miocitară -determină creşterea matricei extracelulare de colagen -hipetrofia musculaturii peretelui vascular -determină creşterea eliberării de adrenalină din medulara suprarenaliană -măreşte reabsorbţia de sodiu din tubul proximal -vasoconstricţie renală -tonus simpatic crescut -creşte aldosteronul	-scade presiunea arterială sistemică şi pulmonară precum şi pe cea din capilarele pulmonare -creşte fluxul coronar -măreşte relaxarea ventriculară -scade masa ventriculului stâng -reduc suprafaţa infarctului -scad leziunile de reperfuzie -creşte fracţia de ejecţie -creşte debitul cardiac -scăderea agregării plachetare (inhibă PAI-1) -scăderea proteinuriei

este transformată de către enzima de conversie a angiotensinei - produsă în principal de către vasele pulmonare, în angiotensina II (octapeptid activ) (1,2) (fig. 1).

Efectele sistemice ale angiotensinei II şi beneficiile inhibării enzimei de conversie a angiotensinei sunt arătate în tabelul I.

Există şi efecte locale ale angiotensinei, efecte prezente la nivelul endoteliilor vasculare. Endoteliul vascular participă la homeostazia tonusului vascular prin eliberarea de angiotensină II şi a oxidului nitric, un vasodilatator potent. Dacă acest mecanism local este perturbat ca urmare a stressului oxidativ, endoteliul vascular nu mai poate regla tonusul vascular ca răspuns la nevoile locale (3). Consecinţa este apariţia disfuncţiei endoteliale ca fenomen iniţial în declanşarea procesului atherosclerotic (4). IECA reduc degradarea bradikininei (tab. I) contribuind astfel la creşterea eliberării de oxid nitric şi ducând consecutiv la protecţia organelor ţintă de efectele stressului oxidativ (5). Date recente sugerează rolul sistemului renină-angiotensină şi implicit al IECA în patogeneza şi respectiv tratamentul sindromului metabolic, diabetului zaharat şi obezităţii (6).

FARMACOLOGIE

Inhibitorii enzimei de conversie a angiotensinei sunt o clasă destul de omogenă de medicamente (tab. II), agenţi lipofili cu o bună absorbţie intestinală şi care pot fi în forme *active* ca atare (cazul captoprilului şi lisinoprilului) sau pot avea formă *proactivă* (enalapril, trandolapril, perindopril) devenind active dupa metabolizarea lor hepatică, ceea ce le dă un timp de acţiune prelungit. Efectul IECA în organism nu depinde strict de timpul de înjumătăţire a substanţei active ci în special de afinitatea faţă de enzima de conversie. Eliminarea IECA se face îndeosebi renal, excepţie făcând fosinoprilul şi trandolaprilul care au eliminare duală, renală şi hepatică.

EFECTE ADVERSE

IECA sunt o clasă de medicamente relativ bine tolerată, motiv pentru care ghidurile actuale, atât cel american (7) cât şi cel european (8) situează IECA pe primele locuri ca opţiuni terapeutice în hipertensiunea arterială. Rata efectelor adverse se situează între 0,5 şi 5 %, ultima cifră fiind rezervată pentru captopril, majoritatea IECA de generaţie nouă având rate de apariţie în jur de 1% (9). În funcţie de mecanismul de apariţie al efectelor adverse ele se clasifică în două categorii: fiziologice (derivă din acelaşi mecanism ce realizează efectul terapeutic) şi non-fiziologice (efecte nedorite legate de alte acţiuni ale IECA).

TABELUL II

Principalele medicamente din clasa IECA şi dozele uzual folosite

Agent	Doza	Comentarii
Captopril	25-250 mg/zi	Relativ frecvente efecte adverse
Enalapril	10-40 mg/zi	
Fosinopril	5-40 mg/zi	Eliminare duală, necesită scăderea dozei în insuficienţa hepatică
Lisinopril	20-40 mg/zi	Bine tolerat
Perindopril	5-10 mg/zi	Efecte adverse reduse
Quinapril	20-80 mg/zi	Absorbţie redusă de alimente
Ramipril	2,5-20 mg/zi	Necesită scăderea dozei în insuficienţa hepatică
Trandolapril	1,2,4 mg/zi	Eliminare duală

Efecte adverse fiziologice

Hipotensiunea nu este în realitate un efect advers din moment ce IECA au ca efect principal scăderea tensiunii; din acest motiv hipotensiunea trebuie privită ca o extindere a efectului de bază al IECA. Majoritatea reprezentanţilor acestei clase produc hipotensiune de primă doză, cea mai simplă formă de prevenţie fiind administrarea primei doze în jumătate. Este necesară o precauţie deosebită la pacienţii cu insuficienţă cardiacă pentru a nu deteriora suplimentar starea hemodinamică precară.

Retenţia azotată. IECA realizează o reducere a ratei de filtrare glomerulară la anumite grupe de pacienţi (cei cu stenoză unilaterală de arteră renală şi rinichi unic, cei cu stenoză bilaterală de artere renale care reprezintă şi contraindicaţii absolute ale administrării IECA sau mai rar la persoanele cu: insuficienţa cardiacă congestivă, deshidratare (10), boli renale microvasculare, folosirea îndelungată de AINS). Dacă la aceşti pacienţi secreţia de angiotensină II menţine filtrarea glomerulară prin constricţia arteriolei eferente, administrarea de IECA duce la precipitarea retenţiei azotate prin vasodilataţia arteriolei eferente şi consecutiv scăderea presiunii de filtrare. La apariţia retenţiei azotate se recomandă oprirea tratamentului, umplerea precaută a spaţiului vascular şi investigarea unei posibile stenoze de arteră renală (fig.2).

Toxicitatea fetală. Întreruperea sistemului renină-angiotensină produce un stress puternic rinichiului imatur, în formare, prin scăderea presiunii de filtrare. Tratamentul cu IECA este asociat cu oligohidramnios, hipoperfuzie organică, hipotensiune arterială şi chiar moarte intrauterină (9).

Hiperpotasemia. IECA determină creşterea potasiului sangvin la toţi pacienţii, o anumită proporţie (sub 5% în majoritatea studiilor) atingând valori de peste 5,5 mmol/L (11). Explicaţia rezidă în inhibiţia aldosteronului şi stimularea reabsorbţiei de K din tubul contort distal. Efectul advers este mai des întâlnit când există în dietă o suplimentare de sare de potasiu (disponibilă actualmente pe scară larga şi în România) sau când pacientul este concomitent tratat cu

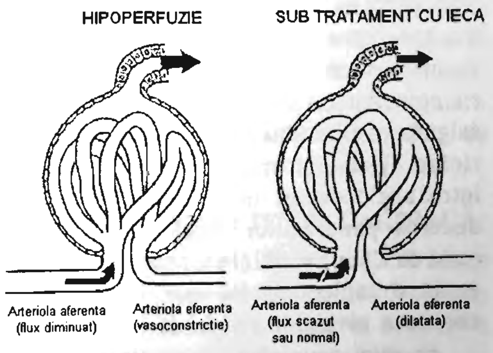

HIPOPERFUZIE
SUB TRATAMENT CU IECA
Arteriola aferenta (flux diminuat)
Arteriola eferenta (vasoconstrictie)
Arteriola aferenta (flux scazut sau normal)
Arteriola eferenta (dilatata)

Fig. 2. Efectele IECA asupra filtrării glomerulare

antiinflamatorii sau alţi inhibitori ai ciclooxigenazei.

Efecte adverse non-fiziologice

Tusea, de obicei uscată, persistentă este cea mai frecventă reacţie adversă a IECA şi se datorează creşterii cantităţii de bradikinină şi a altor peptide (fiind incriminat şi peptidul P) care joacă rolul de mesager secund pentru declanşarea reflexului de tuse. Pacientul trebuie avertizat asupra posibilei sale apariţii, pentru a se evita investigaţii inutile. Frecvenţa apariţiei tusei variază în diverse studii între 5 şi 20% şi nu este corelată strâns cu vârsta sau sexul pacienţilor. Tusea dispare, de obicei, la 3-5 zile de la încetarea medicaţiei. În această situaţie se recomandă înlocuirea IECA cu un blocant de receptor de angiotensină (BRA) sau un alt preparat antihipertensiv.

Angioedemul este un efect advers potenţial letal, mai frecvent la rasa neagră, datorat bradikininei în special. Apare la aproximativ 0,4 - 1% din pacienţii trataţi, dar procentul real pare a fi mai mic. Manifestările iniţiale sunt mai puţin severe (linguale, labiale, faciale) şi pot fi puse pe seama alimentaţiei sau altor medicaţii, dar în cursul tratamentului cronic pot fi severe şi în unele cazuri mortale. Pot exista şi manifestări gastro-intestinale, mai frecvente la femei, cu greţuri, vărsături, disfagie cu sau fără edem facial sau faringian. Întreruperea tratamentului este de obicei suficientă pentru reducerea simptomelor (12,13) dar în cazuri severe se impune tratament urgent cu epinefrină s.c. şi corticosteroizi i.v. şi asigurarea libertăţii căilor respiratorii superioare. Unii autori au sugerat o corelaţie între angioedemul indus de IECA şi producerea pancreatitei acute, ipoteză infirmată de Cheng et al. (14). Mecanismul patogenic al angioedemului este reprezentat de creşterea nivelelor serice de bradikinină.

Anemia, cauzată de inhibiţia eritropoietinei de către IECA, apare în special la pacienţii cu boală renală cronică la care există un deficit secretor renal de eritropoietină. În plus metabolizarea IECA duce la acumularea de N-acetil-seril-aspartil-lisil-prolină, puternic inhibitor natural al multiplicării celulelor stem care poate avea drept urmări depleţia elementelor figurate pe toate liniile. Descoperirea acestui efect advers a dus la folosirea IECA în tratamentul poliglobuliei post-transplant renal si a celei de altitudine (15).

Efecte adverse nespecifice

Pot apărea sporadic: tulburări de gust (disgeuzie - gust metalic), rash cutanat sau erupţie maculopapuloasă (cu etiologie încă incomplet precizată alergică sau bradikinică), obstrucţie nazală, oboseală, stare de excitaţie, reacţii depresive. (16)

IECA ÎN HIPERTENSIUNEA ARTERIALĂ

Hipertensiunea arterială reprezintă indicaţia majoră a inhibitorilor enzimei de conversie. Mecanismele de acţiune prin care IECA scad tensiunea arterială reies în principal din efectul asupra sistemului renină-angiotensină deşi au fost descrişi numeroşi alţi factori de scădere a TA. Prima analiză la scară largă privind eficacitatea IECA în bolile cardiovasculare a fost trialul HOPE (17) publicat în 1999 care a demonstrat scăderea morbidităţii şi mortalităţii cardiovasculare după tratamentul a peste 9000 de pacienţi. Actualmente cel mai comprehensiv ghid de indicaţii ale medicamentelor antihipertensive este cel publicat de Societatea Europeană de Cardiologie împreună cu Societatea Europeană de Hipertensiune (ESC-ESH) în 2007 (8), elaborat în urma unui mare număr de trialuri randomizate şi metaanalize publicate în ultimii ani. Întrucât scăderea tensiunii arteriale este posibilă cu mai multe clase de antihipertensive iar mortalitatea şi frecvenţa complicaţiilor au fost legate în special de valoarea tensiunii şi mai puţin de medicamentul folosit, indicaţiile claselor de antihipertensive sunt actualmente legate mai mult de comorbidităţi şi de prezenţa efectelor adverse. Iată principalele grupe de pacienţi hipertensivi la care administrarea de IECA a fost considerată a fi de clasă I (consens cu privire la utilitatea medicaţiei):

- pacienţi cu insuficienţă cardiacă;
- disfuncţie ventriculară dreaptă
- post infarct miocardic
- nefropatie diabetică
- nefropatie non-diabetică
- hipertrofie ventriculară dreaptă
- ateroscleroză carotidiană
- proteinurie / microalbuminurie
- fibrilaţie atrială
- sindrom metabolic

Iniţierea terapiei antihipertensive este alt subiect important explorat de studiile din ultimii ani. Se recomandă monoterapia, aplicând metoda pas-cu-pas: se introduce un singur medicament în doza minimă terapeutică, după care se creşte doza progresiv. Dacă medicamentul nu realizează controlul adecvat al tensiunii arteriale (140/90 mmHg respectiv 130/80 mmHg pentru diabetic) sau apar efecte adverse se schimbă terapia pornind cu alt medicament din altă clasă, la doză minimă. Această metodă are avantajul administrării unui singur medicament care (dacă este eficace) beneficiază de o bună aderenţă din partea pacientului, precum şi de o depistare corectă a efectelor adverse.

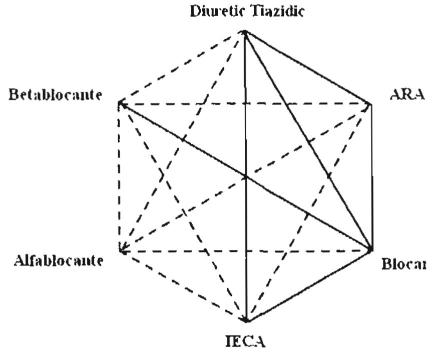


Fig. 3. Principalele medicamente antihipertensive şi asocierea lor

Studiile însă au demonstrat în peste 50% din cazuri că HTA nu este controlată la valorile-ţintă (18) şi în plus introducerea progresivă a mai multor medicamente în monoterapie este dificilă pentru pacient şi consumatoare de timp pentru personalul medical. Tendinţa actuală (18,19,20) este cea de a folosi combinaţii de antihipertensive pentru a controla eficient TA, majoritatea combinaţiilor beneficiind de o eficacitate ridicată (21) şi prin controlul rapid al simptomelor de o bună aderenţă la terapie. Iată cum arată schematic cele mai folosite asociaţii de medicamente pentru controlul TA (fig. 3).

Ideea de a administra din start o combinaţie de medicamente a dus la apariţia în ultimi ani a combinaţiilor fixe de medicamente cu două substanţe în aceeaşi formă medicamentoasă, având avantajul unei complianţe mai bune la tratament din partea pacientului. Asocierile cele mai cunoscute includ perindoprilul şi indapamida (22) sau fosinoprilul şi hidroclorotiazida (23), care contrabalansează efectul asupra potasiului.

O abordare nouă în legătură cu efectele de durată ale medicaţiei antihipertensive este adusă de studiul NICE (National Collaboration Centre for Chronic Conditions) - (24) care aduce în discuţie impactul hipertensiunii şi al medicaţiei asupra vieţii pacientului în funcţie de numărul de ani de viaţă salvaţi (QUALY). Din această perspectivă IECA reprezintă alaturi de blocantele canalelor de calciu cea mai bună opţiune în hipertensiune, prin prisma eficacităţii ridicate, ratei reduse de efecte adverse, beneficiilor metabolice asociate şi ratei reduse de incidente cardiovasculare ulterioare (25).

IECA ÎN INSUFICIENŢA CARDIACĂ

Tratamentul cu inhibitori ai ECA aduce beneficii demonstrate în insuficienţa cardiacă prin reducerea volumului circulant, vasodilataţie, remodelare ventriculară, îmbunătăţirea relaxării ventriculare. Beneficiul este cu atât mai mare cu cât există mai mulţi factori de risc asociaţi, studiile aratând o reducere semnificativă a mortalităţii după tratamentul cu IECA atât prin îmbunatăţirea stării hemodinamice cât mai ales prin prevenţia evenimentelor cardiovasculare ulterioare la pacientul cu insuficienţa cardiacă. IECA sunt utilizaţi în prezent la aproximativ 70% din pacienţii cu insuficienţă cardiacă congestivă. Unul din indicatorii importanţi de prognostic şi severitate a insuficienţei cardiace şi anume presiunea sistolică ventriculară stângă, este influenţat în mod pozitiv de folosirea IECA (26). O metaanaliză recent efectuată (27) arată că folosirea IECA de generaţie mai veche (captopril şi enalapril) s-a asociat cu o mortalitate cu 10 - 15% mai mare comparativ cu inhibitorii de generaţie mai nouă (începând cu ramiprilul). Limitele tratamentului sunt legate de prezenţa hipotensiunii arteriale sau a bolii renale asociate şi necesită o evaluare completă a pacientului înainte de iniţierea terapiei. Cu toate acestea se apreciază (28) că IECA sunt în continuare prescrişi insuficient în insuficienţa cardiacă. Anemia asociată este o altă problemă terapeutică, iar în cazul apariţiei acestui efect advers terapia trebuie întreruptă. Direcţii noi de cercetare aduc în lumină rolul IECA în îmbunătăţirea supravieţuirii în insuficienţa cardiacă prin rolul lor în scăderea agresiunii oxidative asupra fibrei miocardice. Blocarea acţiunii angiotensiei la nivel cardiac prin inhibitorii enzimei de conversie sau prin blocarea receptorilor angiotensinei ar duce astfel la o creştere a performanţei cotractile a miocardului.

IECA ÎN DIABETUL ZAHARAT

Scăderea tensiunii arteriale este o prioritate la pacientul diabetic. Indiferent de medicaţia folosită, scăderea *per se* a tensiunii arteriale la valorile ţintă corespunzătoare pentru pacientul diabetic (130/80 mmHg) duce la beneficii importante scăzând incidenţa accidentelor vasculare cerebrale, a bolilor coronariene şi arteriale periferice, a insuficienţei cardiace congestive, a mortalitaţii cardiovasculare totale.

Actualmente există un mare interes pentru administrarea inhibitorilor de enzimă de conversie la pacientul diabetic şi hipertensiv. Neutralitatea metabolică a IECA impune această terapie comparativ cu betablocante (unii autori susţinând totuşi că betablocantele selective cum ar fi carvedilolul sau betaxololul nu ar produce hiperglicemie - fără să existe un consens în literatură) sau a diureticelor tiazidice. În afara efectului antihipertensiv, IECA aduc beneficii suplimentare în diabet prin:

- prevenţia apariţiei microalbuminuriei şi a nefropatiei diabetice
- ameliorarea circulaţiei periferice prin efectul vasodilatator
- stoparea sau chiar regresia leziunilor aterosclerotice
- efectul antiagregant plachetar
- scăderea riscului de evenimente coronariene şi cerebrovasculare
- unele studii sugerează scăderea rezistenţei la insulină şi o ameliorare a pătrunderii glucozei în celule în urma tratamentului cu IECA.

IECA ŞI ATEROSCLEROZA

Există date suficiente în literatură care susţin efectul inhibitorilor enzimei de conversie asupra progresiei leziunii aterosclerotice. Încă din 1999 studiul HOPE menţiona efectele benefice ale ramiprilului în privinţa evoluţiei aterosclerozei la bolnavul hipertensiv (17). Studiul EUROPA a confirmat în 2003 rezultatele studiului HOPE şi a ridicat problema tratamentului cu IECA în toate cazurile de ateroscleroză dovedite, inclusiv la normotensivi (dacă nu există contraindicaţii) (29). Rezultate diferite aveau să apără însă un an mai târziu cand studiul PEACE a adus dovezi contradictorii referitor la un alt IECA şi anume faptul că tratamentul cu trandolapril nu a adus beneficii la pacienţii cu cardiopatie ischemică dar fără insuficienţă cardiacă (30). Toate aceste metaanalize au arătat scăderea mortalităţii cardiovasculare, reducerea afectării organelor tintă şi a evenimentelor cardiovasculare dar nu au putut demonstra efecte benefice clare în privinţa aterosclerozei.

IECA ÎN TERAPIA POST-INFARCT MIOCARDIC

Există un larg consens în literatură în privinţa utilizării IECA în terapia post-infarct miocardic. Se apreciază că odată cu apariţia acestei clase de medicamente mortalitatea prin infarct miocardic a scăzut cu circa 20% (31). Încă din primele 24 de ore, introducerea inhibitorilor enzimei de conversie a angiotensinei a determinat scăderea complicaţiilor şi a mortalităţii postinfarct, îmbunătăţirea stării hemodinamice şi a tratamentului factorilor de risc asociaţi, fiind astfel consideraţi medicaţie de clasă Ia în ghidurile europene şi americane (32). Grupele de pacienţi la care beneficiul IECA este maxim sunt cei cu infarct miocardic recent şi disfuncţie ventriculară stângă sistolică sau cei cu diabet zaharat. Studiul TRACE (TRAndolapril Cardiac Evaluation), care a evaluat pe termen lung supravieţuirea post-infarct a arătat că beneficiile folosirii IECA în privinţa mortalităţii şi a spitalizărilor s-a menţinut pe circa 10-12 ani (33). Beneficiile terapiei sunt maxime în cursul primelor zile de la infarct când riscul pentru pacient este maxim. Efectul este cu atât mai evident cu cât există un risc mai mare de apariţie a insuficienţei cardiace prin remodelare ventriculară, creşterea zonei de infarct şi a proporţiei semnificative de miocard afectat. Prin aceste beneficii majore IECA reprezintă unul din cei mai importanţi piloni ai terapiei medicale postinfarct alături de betablocante, tromboliză şi aspirină.

Există şi un oarecare risc asociat folosirii IECA în infarctul miocardic. Trebuie luată in considerare posibilitatea apariţiei hipotensiunii arteriale la pacienţii care dezvoltă insuficienţă cardiacă postinfarct în primele zile de evoluţie. De asemenea există o creştere a riscului de apariţie a retenţiei azotate (creşteri ale creatininei la 0,9-2,4% dintre pacienţi) şi a şocului cardiogen, efecte puse tot pe seama acţiunii hipotensive a inhibitorilor enzimei de conversie (31). Se consideră că prezenţa unei tensiuni sistolice sub 100 mmHg contraindică formal instituirea tratamentului cu IECA postinfarct, deşi unităţile spitaliceşti cu dotare de ultimă oră tind să folosească această clasă de medicamente în continuare pentru a nu renunţa la beneficiile clare legate de mortalitatea generală, putând interveni precoce şi eficace în cazul apariţiei evenimentelor cardio-vasculare post-infarct.

CONCLUZII

Eficacitatea tratamentului cu IECA în boala hipertensivă este binecunoscută, această clasă având deja o poziţie clar stabilită ca tratament de primă linie în boala hipertensivă. Tendinţa actuală este de a extinde folosirea IECA datorită beneficiilor importante de reducere a mortalităţii şi morbidităţii în infarct şi boala ischemică. Studiile recente pun accentul pe beneficiile multiple ale acestei clase de medicamente, cu puţine efecte adverse, neutralitate metabolică, beneficii în ateroscleroză, efect vasodilatator şi antiagregant plachetar. Cunoaşterea atât a beneficiilor cât şi a precauţiilor în administrare, precum şi a asociaţiilor medicamentoase optime asigură impactul terapeutic maxim al acestor medicamente.

BIBLIOGRAFIE

1. *** The WHO Global InfoBase 2005.
2. Bicket D. Using ACE inhibitors appropriately. *Am Fam Physician* 2002 ; 66 (3) : 461-468 .
3. Martin P. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev* 2006 ; 86 : 747-803.
4. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 2004 ; 109 : 32-27.
5. Toto RD. ACE inhibitors and target organ protection. *Postgraduate Med* 2004 ; 116 (2) : 19-22.
6. Sarzani C. Renin-angiotensin system, natriuretic peptides, obesity, metabolic syndrome, and hypertension : an integrated view in humans. *J Hypertension* 2008 ; 26 (5) : 831-843.
7. Rosendorff C. Cardiology and epidemiology and prevention Council for high blood pressure research and the Councils on Clinical Heart Disease : A scientific statement from the American Heart Association treatment of hypertension in the prevention and management of cardiac ischemic disease. *Circulation* 2007 ; 115 : 2761-2788.
8. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A et al. Guidelines for the managemment of arterial hypertension. *Eur Heart J* 2007 ; 28 : 1462-1536.
9. Shimamoto K. Adverse effects of ACE inhibitors, ARB, diuretics, and alpha1 blockers. *Nippon Rinsho* 2007 ; 28 (65 Suppl 8) : 159-164.
10. Stirling C, Houston J, Robertson S et al. Diarrhoea, vomiting and ACE inhibitors : —an important cause of acute renal failure. *J Hum Hypertens* 2003 ; 17 (6) : 417-419.
11. Kaplan NM., Rose BD. Major side effects of ACE inhibitors. *UpToDate*. 2008.
12. Arai T. Angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin II receptor antagonists, and symptomless dysphagia. *Chest* 2000 ; 117 : 1819-1820.
13. Symvoulakis EK. Angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACE-I)- and angiotensin receptor blocker (ARB)-related angioedema : a neglected issue in daily practice in Greece. *Eur J Gen Pract* 2007 ; 13 (4) : 239-241.
14. Cheng RM, Mamdani M, Jackevicius CA et al. Association between ACE inhibitors and acute pancreatitis in the elderly. *Ann Pharmacother* 2003 ; 37 : 994-998.
15. McMullin MF. Guidelines for the diagnosis, investigation and management of polycithaemia/ erythrocytosis. *Br J Haematol* 2005 ; 130 : 174-195.
16. Rebelo GE, Pasca D. Drug allergy. *Curr Op Allergy & Clin Immunol* 2005 ; 5 (4) : 309-316.
17. *** HOPE (Heart Outcomes Prevention Evaluation). *72nd Scientific Sessions of the American Heart Association.* Trial November. 1999, 10.
18. Mourad JJ. Comparison of different therapeutic strategies in hypertension : a low-dose combination of perindopril/indapamide versus a sequential monotherapy or a stepped-care approach. *J Hypertens* 2004 ; 22 (12) : 2379-2386.
19. *** ONTARGET Investigators, Yusuf S et al. Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *N Engl J Med* 2008 ; 10 ; 358 (15) : 1615-1616.
20. Phillips CO, Kashani A, Ko DK et al. Adverse effects of combination angiotensin II receptor blockers plus angiotensin-converting enzyme inhibitors for left ventricular dysfunction : a quantitative review of data from randomized clinical trials. *Arch Intern Med* 2007 ; 167 (18) : 1930-1936.
21. Trewet CL, Ernst ME. Resistant hypertension : identifying causes and optimizing treatment regimens.*South Med J* 2008 ; 101 (2) : 166-173.
22. *** PROGRESS Collaborative Group. Randomised trial of a perindopril-based blood-pressure-lowering regimen among 6,105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack. *Lancet* 2001 ; 358 (9287) : 1033-1041.
23. Pool JL. Use of the factorial design and quadratic response surface models to evaluate the fosinopril and hydrochlorothiazide combination therapy in hypertension. *Am J Hypertens* 1997 ; 10 : 117-123.
24. *** NICE Clinical Guideline. *Hypertension : Management in Adults in Primary Care : Pharmacological Update,* 2004.

25. McFarlane SI. Mechanisms by which angiotensin-converting enzyme inhibitors prevent diabetes and cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2003 ; 91 (Issue 12A) : 30H-37H.
26. Gonçalves A. Left ventricular systolic function in the prognosis of patients hospitalized due to worsening heart failure. *Rev Port Cardiol* 2008 ; 27 (2) : 177-182.
27. Pilote L. Effect of different angiotensin-converting-enzyme inhibitors on mortality among elderly patients with congestive heart failure *CMAJ* 2008 ; 178 (10) : 1303-1311.
28. Gotsman I. Use of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers in patients with congestive heart failure : an observational study of treatment rates and clinical outcome. *Isr Med Assoc J* 2008 ; 10 (3) : 214-218.
29. *** EUROPA trial. *Perindopril for all CHD patients ?* European Society of Cardiology Congress 2003.
30. *** PEACE : ACE inhibitor fails to provide further benefit in stable CAD patients with preserved LV function. *N Engl J Med* 2004 ; 11 : 36-41.
31. Borer JS. Angiotensin-converting enzyme inhibition : a landmark advance in treatment for cardiovascular diseases. *Eur Heart J Suppl* 2007 ; 9 (suppl_E) : E2–E9.
32. Anderson JL. ACC/AHA 2007 Guidelines for the management of patients with unstable angina/ non-ST-elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2007 ; 50 (7) : e1–e157.
33. Buch P. The long-term impact of the angiotensin-converting enzyme inhibitor trandolapril on mortality and hospital admissions in patients with left ventricular dysfunction after a myocardial infarction : follow-up to 12 years. *Eur Heart J* 2005 ; 26 : 145-152.

NOUTĂŢI

GLUCONATUL FERIC REDUCE NECESARUL DE ERITROPOETINĂ LA PACIENŢII HEMODIALIZAŢI CU VALORI CRESCUTE ALE FERITINEI

Studiul DRIVE (răspunsul pacienţilor dializaţi cu feritină crescută la fier intravenos), a demonstrat eficienţa gluconatului feric iv în îmbunătăţirea valorilor hemoglobinei la pacienţii hemodializaţi cu anemie care au primit doze adecvate de eritropoetină şi care au avut valori ale feritinei 500-1200 ng/mL şi indice de saturare al transferinei mai mic de 23%. Studiul DRIVE 2 demonstrează modul în care gluconatul feric influenţează necesarul de eritropoetină la pacienţii din studiul DRIVE. În timpul studiului DRIVE 2 nefrologii şi hematologii au ajustat dozele de eritropoetină şi fier iv în funcţie de datele clinice. La sfârşitul studiului pacienţii din grupul ce a primit gluconat feric au necesitat semnificativ mai puţină eritropoetină decât în timpul studiului iniţial DRIVE, în acelaşi timp doza de eritropetină la pacienţii din grupul de control nu s-a schimbat. Folosirea unei doze mai mici de eritropoetină este benefică pentru pacienţi, o recentă avertizare (martie 2007) de la Food and Drugs Administration recomandând folosirea celei mai mici doze posibile de agent de stimulare a eritropoezei care poate creşte gradat hemoglobina până la acel nivel ce evită necesitatea transfuziei. Valorile medii ale hemoglobinei, feritinei serice şi ale saturaţiei transferinei au rămas mai ridicate la pacienţii ce au primit gluconat feric decât la grupul de control. De asemenea, pe parcursul celor două săptămâni (cat au durat cele două studii) pacienţii din grupul de control au suferit evenimente adverse semnificativ mai numeroase decat cei din grupul ce a primit gluconat feric. În concluzie, gluconatul feric menţine hemoglobina şi permite folosirea de doze mai mici de eritropoetină la pacienţii hemodializaţi anemici cu indice de saturaţie a transferinei mic şi valori ale feritinei până la 1200 ng/mL. Totuşi, studiul nu aduce nicio informaţie cu privire la evoluţia pacienţilor pe o perioadă îndelungată. În practica din ţara noastră, echivalentul Gluconatului feric este Fierul sucroză (Venofer) (Kapoian T, O'Mara NB, Singh A et al. Ferric gluconate reduces epoetin requirements in hemodialysis patients with elevated ferritin. *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 (2) : 372-379).

Ioana Dana Alexa

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE ACTUALITĂŢI

PUBERTATEA, SARCINA, SEXUL ŞI STATUSUL HORMONAL - POSIBILI FACTORI DE RISC PENTRU NEFROPATIA DIABETICĂ

N.M. Panduru[1,2], Laura Ioana Chivu[3], R.D. Chivu[3], Ioana Anca Bădărău[3], D.F. Albu[3], Simona Fica[3], Daniela Adriana Ion[3]
1. Institutul Naţional de Diabet, Nutriţie şi Boli metabolice "N.C. Paulescu" Bucureşti
Universitatea de Medicină şi Farmacie Craiova
2. Facultatea de Medicină
Universitatea de Medicină şi Farmacie "C. Davila" Bucureşti
Facultatea de Medicină
3. Departamentul de Fiziopatologie

PUBERTY, PREGNANCY, GENDER AND HORMONAL STATUS - PUTATIVE RISK FACTORS FOR DIABETIC NEPHROPATHY (Abstract): Contemplation of non-genetic risk factors that are influencing the onset and development of diabetic nephropathy (diabetic kidney disease - DKD) is very important. This article is integrative, assessing the existent data about several possible risk factors for DKD. Because the age of onset and postpubertal duration of diabetes seems to be strongly correlated with DKD, it is feasible for puberty to be another independent risk factor. Data analysis regarding puberty and possible explanatory mechanisms to link it with DKD, as the connection with DKD of other situations, with special hormonal status (like pregnancy), is also part of this article. Summing up the data about hormonal status, we can conclude that ANF levels are a risk factor for diabetic nephropathy because they are implicated in diminution of urinary Na elimination and hypertension and subsequent urinary albumin excretion (UAE) in case of inadequate glycaemic control. The evidences regarding GH are indicating that it is a risk factor for DKD and that he is probably implicated in glomerular hypertrophy onset at puberty. The urinary elimination levels of GH are very strong correlated with UAE being putative early marker for DKD. Also the GH deficiency seems to be a protective mechanism for DKD apparition. GH is strongly correlated with IGF-1 that has very high urinary levels in microalbuminuric patients. These levels are very well related to UAE, kidney volume - important markers for glomerular hypertrophy. The evidences accumulated until now regarding the role of masculine gender, testosterone and estrogens in DKD are inarticulate. Key words: DIABETIC NEPHROPATHY, PUBERTY, GENDER, HORMONAL STATUS

Diabetul zaharat este una din principalele probleme de sănătate la nivel mondial, previziunile privind incidenţa sa arătând o tendinţă continuu crescătoare până în 2025. Complicaţiile cronice ale diabetului sunt cele mai costisitoare consecinţe ale acestei boli. Dintre complicaţiile cronice, nefropatia diabetică este cu siguranţă cea mai costisitoare şi invalidantă dintre ele. De aceea depistarea şi prevenţia sa reprezintă direcţii majore de cercetare în diabetologie şi nefrologie. Pentru a putea preveni sau influenţa evoluţia nefropatiei diabetice trebuie să cunoaştem cauzele care o produc şi factorii ce-i influenţează evoluţia. Eforturile de a descoperi factorii de risc nongenetici şi genetici ai nefropatiei diabetice cunosc o expansiune continuă, cunoscându-se la ora actuală peste 20 factori de risc nongenetici şi peste 200 de gene

care au fost studiate în legătură cu această boală. Acest articol se înscrie în eforturile de a încerca să integrăm datele privind câţiva posibili factori de risc pentru nefropatia diabetică.

Într-un alt articol am arătat rolul vârstei de debut şi duratei diabetului asupra riscului de apariţie a nefropatiei diabetice, concluzionând că riscul de apariţie a diabetului este influenţat de vârsta de debut, iar cu privire la durata bolii durata postpubertală pare mai bine asociată cu dezvoltarea nefropatiei comparativ cu durata totală a bolii. Aceste date sugerează că anumite evenimente, cum ar fi pubertatea pot avea consecinţe asupra apariţiei şi dezvoltării nefropatiei. Rolul pubertăţii în dezvoltarea bolii renale diabetice (tab. I) a fost evaluat prima dată de Rogers DG et al. intr-un studiu de mici dimensiuni, în care s-a observat ca nefropatia diabetica a fost relativ rară (9%) în lotul de pacienţi aflaţi spre finalul pubertăţii, iar în lotul pacienţilor prepubertari ea a fost absentă, în ciuda unor valori asemănătoare ale hemoglobinei glicozilate. Concluzia acestei lucrări emitea ipoteza că pubertatea poate juca un rol în dezvoltarea complicaţiilor microvasculare în IDDM şi că nivelele crescute de factori de creştere, hormoni sexuali alături de deteriorarea controlului glicemic în timpul pubertăţii pot juca un rol în creşterea incidenţei bolii renale diabetice la pacienţii cu diabet tip 1 (1). O altă cercetare a 552 pacienţi cu diabet, cu durata medie a diabetului de 20,8 ani a arătat că prevalenţa nefropatiei şi retinopatiei este mai mare în grupul de pacienţi diagnosticaţi la pubertate comparativ cu cei diagnosticaţi prepubertal (2). Un alt studiu al cărui scop a fost să evalueze dezvoltarea complicaţiilor microvasculare în funcţie de momentul de debut al bolii - înainte, în timpul pubertăţii sau postpubertal - a arătat, pentru pacienţii cu o durată a diabetului mai mică de 20 ani, că riscul complicaţiilor microvasculare a fost mai mare la pacienţii cu debut în timpul pubertăţii, comparativ cu cei cu debut înainte de pubertate dar nu şi faţă de cei cu debut postpubertal. După 20 de ani de durată a diabetului nu există diferenţe intre cele trei grupuri (3). Janner M et al. studiind pacienţii cu diabet tip 1 urmăriţi pentru aproximativ 8 ani, a arătat că prima manifestare de microalbuminurie persistentă a apărut la 69% din subiecţii ce au dezvoltat microalbuminurie în timpul pubertăţii precoce şi medii şi în 28% din cazuri în timpul pubertăţii târzii, niciun pacient nedezvoltând microalbuminurie înainte de pubertate (4). Bognetti E et al. au arătat într-un studiu pe 317 pacienţi cu diabet tip 1 absenţa microalbuminuriei înainte de pubertate (5). Deşi datele epidemiologice implică pubertatea ca un factor de risc pentru dezvoltarea nefropatiei diabetice, mecanismul rămâne puţin cunoscut. Un studiu care a încercat să clarifice efectul duratei pubertăţii asupra a 3 markeri surogat ai hipertrofiei glomerulare / hipertensiunii: volumul rinichiului (KV - kidney volume), microalbuminuria (MA) şi Na-Li cotransportor (CT) a arătat că durata pubertală este un determinant important al KV şi MA, sugerând că nefromegalia precede microalbuminuria, ambele fiind probabil legate de efectul mediului pubertal asupra hipertrofiei glomerulare / hipertensiunii (6). Mediul hormonal pubertal este caracterizat de modificări semnificative mai ales ale secreţiei GH, IGF-1 şi hormonilor steroizi (7), posibil implicate în patogenia nefropatiei,

TABELUL I

Rolul pubertăţii în dezvoltarea bolii renale diabetice

Concluzia studiului privind rolul pubertăţii	**Nu influenţează BRD**	**Este factor de risc pentru BRD**
Referinţă	-	1, 2, 3, 4, 5, 6[1]

TABELUL II

Rolul sarcinii în dezvoltarea bolii renale diabetice

Concluzia studiului privind rolul sarcinii	Nu influenţează BRD	Este factor de risc pentru BRD
Referinţă	9, 10, 11, 12, 16	8, 13, 14, 15, 16, 17, 18,19

însă acest lucru îl vom discuta ulterior în acest articol.

Deoarece pubertatea este un moment de modificare profundă a statusului hormonal un alt eveniment asemănător - sarcina - poate deveni şi el un factor ce influenţează apariţia bolii. În legătură cu rolul sarcinii (tab. II) în dezvoltarea bolii renale diabetice - prima raportare a 5 cazuri de femei cu diabet care în urma sarcinii au dezvoltat nefropatie aparţine lui Dicker D et al. în 1986 (8). Au urmat câteva articole care au arătat creşterea eliminării urinare a proteinelor în timpul sarcinii, cu revenirea postpartum la valorile anterioare, la pacientele cu afectare renală prealabilă (9,10). Din păcate în aceste studii pacientele nu au fost urmărite o perioada suficientă postpartum, pentru a vedea efectul pe termen mediu al sarcinii asupra nefropatiei diabetice. Reece EA et al. au urmărit pacientele 4 ani înainte şi după naştere au ajuns la concluzia că sarcina la pacientele cu nefropatie uşoară sau moderată nu pare să accelereze rata declinului funcţiei renale (11). Această concluzie avea să fie susţinută şi de un studiu al Miodovnik M et al. peste 6 ani (12). Au urmat câteva raportări de cazuri de paciente cu proteinurie la care funcţia renală s-a deteriorat pe termen lung, necesitând o mai rapidă terapie de substituţie renală după naştere (13,14). Progresia nefropatiei diabetice a fost accelerată în timpul sarcinii la 40% din femeile cu boală renală preexistentă şi insuficienţă renală moderată sau severă (15). Biesenbach G et al. au urmărit modificările formulei lipidice concomitent cu cele ale eliminării urinare de proteine la femeile cu proteinurie, observând creşteri ale colesterolului total, LDL colesterolului şi eliminării de proteine urinare. Aceste constatări i-au făcut să concluzioneze că dislipidemia poate fi explicată, în principal, prin creşterea concomitentă a proteinuriei urmată de dezvoltarea sindromului nefrotic în timpul sarcinii (16). De asemenea în aceeaşi perioadă existau articole care arătau accelerarea BRD ca urmare a preeclampsiei, recomandând urmărirea atentă pentru evitarea acesteia (17). Un alt studiu arăta că nu toate mamele cu nefropatie diabetica preexistentă vor evolua spre dializă, ci doar un subset al acestora a evoluat către dializă în primii 3 ani după naştere (18). Lauszus FF et al. au încercat să afle care sunt femeile care prezintă riscul mai mare de evoluţie către microalbuminurie permanentă după naştere, în funcţie de volumul rinichiului. Concluzia lor a fost că femeile cu o durată mare a diabetului şi cu KV < 300 ml, în primul trimestru au riscul cel mai mare de dezvoltare a microalbuminuriei permanente după sarcină (19).

În concluzie, pacientele care au afectare renală uşoară şi durată scurtă a diabetului au toate şansele să nu prezinte agravarea nefropatiei după naştere, în timp ce femeile cu durată lungă a diabetului, cu proteinurie şi rinichi mici au risc crescut de agravare a proteinuriei după sarcină mai ales dacă vor dezvolta sindrom nefrotic sau preeclampsie.

TABELUL III

Rolul sexului în dezvoltarea bolii renale diabetice

Concluzia studiului privind rolul sexului	Nu influenţează BRD	Este factor de risc pentru BRD
Referinţă	numeroase	20, 21*, 22, 23, 24

*** sexul feminin**

Sexul (tab. III) este un alt factor care se pare că afectează de asemenea apariţia microalbuminuriei. Bărbaţii prezintă o prevalenţă de 3 ori mai mare a microalbuminuriei pentru grupa de 10 - 25 ani de durată a diabetului, în timp ce femeile prezintă o prevalenţă mai constantă în funcţie de durata diabetului. O altă creştere a microalbuminuriei este observată la bărbaţi dar nu şi la femei cu de durată a diabetului mai mare de 30 ani, conducând la o prevalenţă combinată a microalbuminuriei şi proteinuriei la peste 30 ani de 84% (bărbaţi) şi 54% (femei) (20). Acest lucru a fost observat pentru prima dată într-un studiu al celor de la StenoDiabetes Center intr-un studiu pe aproape 1400 pacienţi urmăriţi pentru 25 ani - concluzia lor fiind ca nefropatia este mai frecventă la bărbaţi (21). În 1999 Holl RW et al. au arătat ca sexul feminin şi controlul glicemic insuficient sunt factori de risc importanţi pentru dezvoltarea microalbuminuriei (22). Într-un alt studiu sexul masculin a fost asociat cu dezvoltarea macroalbuminuriei (23) şi progresiei bolii renale (24) Cu privire la acest subiect există, de asemenea, numeroase articole care arată că nu există, în populaţiile respective, diferenţe în ceea ce priveşte incidenţa nefropatiei diabetice la bărbaţi comparativ cu femeile.

Deoarece pubertatea, sarcina şi sexul par a juca un oarecare rol în dezvoltarea nefropatiei diabetice este posibil ca statusul hormonal sa influenţeze apariţia nefropatiei, dat fiind faptul ca toate aceste situaţii menţionate sunt, de fapt, situaţii în care organismul prezintă un status hormonal special.

Primele articole privind statusul hormonal s-au referit, însă, la *factorul natriuretic atrial (ANF* sau *Atrial Natriuretic peptide - ANP)* (tab. IV) ale cărui valori au fost găsite crescute la pacienţii cu nefropatie comparativ cu cei fără nefropatie. Pacienţii cu hiperfiltrare, ce poate fi un factor de risc pentru dezvoltarea nefropatiei, prezintă de asemenea nivele crescute de ANF. În ambele cazuri nivelele ridicate de ANF nu au fost corelate cu presiunea sistolică, durata diabetului, vârsta sau controlul metabolic, ceea ce indică faptul că ANF poate fi un factor de risc independent pentru nefropatia diabetică (25). Un alt studiu care a urmărit diferentele intre nivele bazale şi stimulate de ANF la pacienţii cu şi fără nefropatie a sugerat că ANF nu joacă un rol major în dezvoltarea schimbărilor în echilibrul sodiului care sunt asociate cu tipul 1 de diabet şi nefropatia (26). Totuşi, un alt studiu care a nuanţat situaţia pacienţilor în funcţie de controlul glicemic, împărţindu-i în pacienţi cu HbA1c mai mare de 8,5% şi mai mică de 8,5% a observat că răspunsul la ANF la pacienţii cu HbA1C peste 8,5% a fost concretizat prin scăderea volumului urinar şi a excreţiei sodiului, comparativ cu cei cu HbA1C peste 8,5% la care răspunsul a fost la fel cu cei din lotul control. În ciuda nivelelor de ANF similare, excreţia de cGMP după stimularea cu ANF a fost mai mare decât în lotul control. Astfel răspunsul inadecvat la ANF la pacienţii diabetici cu control insuficient al glicemiei pare să fie un mecanism ce contribuie la retenţia de sodiu. Glicemia cât mai apropiată de normal pare să prevină acest fenomen care poate fi implicat în patogeneza nefropatiei diabetice (27). Un articol a demonstrat faptul ca pacienţii care au prezentat valori crescute ale UAE prezintă nivele ale ANF mai mari de 25 pg/mL

TABELUL IV

Rolul nivelului ANF (ANP) în dezvoltarea bolii renale diabetice

Concluzia studiului privind rolul nivelului ANF (ANP)	Nu influenţează BRD	Este factor de risc pentru BRD
Referinţă	26	25, 27, 28, 29

(limita superioară a normalului) în proporţie de 38% comparativ cu lotul control în care acest lucru s-a înregistrat numai la 15% ($p<0,05$), ceea ce sugerează că ANF poate fi unul din mecanismele implicate în UAE dar nu singurul. Jungmann E et al. au efectuat două studii (unul crossecţional şi altul longitudinal) pentru a examina relaţiile dintre nivelele ANF şi UAE sau tensiunea arterială. Aceştia au constatat de asemenea ca nivelele de ANF sunt crescute la pacienţii cu diabet tip 1, comparativ cu lotul control de oameni sănătoşi. În ambele studii nivelele ANF au fost asociate cu nivelul tensiunii arteriale, neexistând corelaţia acestora cu controlul metabolic. În studiul longitudinal, creşterea excreţiei de albumină şi alpha-1-microglobulină au precedat creşterea ANF şi tensiunii arteriale. Concluzia care ar putea fi speculată de aici ar fi că nefropatia diabetică timpurie este declanşată de mecanisme metabolice în timp ce ANF poate contribui la cercul vicios care leagă hipertensiunea de boala renala diabetica, îndată ce nivelele de ANF cresc (28). Faptul că ANF este implicat în nefropatia diabetica este susţinut de Zietse R et al. care au studiat UAE după infuzia cu ANF. Ei au observat ca rata de eliminare transcapilară a albuminei este crescută faţă de nivelul de bază numai la pacienţii cu diabet. Deci ANF devoalează alterarea selectivă a barierei de filtrare pentru albumină într-o fază în care aceasta barieră este caracterizată doar de schimbări ale încărcării electrice (29). În concluzie, nivelele de ANF sunt un factor de risc pentru nefropatie deoarece acestea sunt crescute la pacienţii diabetici, însă joacă un rol în scăderea eliminării de Na şi hipertensiune doar în cazul unui control metabolic inadecvat şi în eliminarea urinară de albumină doar după modificarea încărcăturii electrice a barierei de filtrare, mecanismele timpurii ale declanşării nefropatiei diabetice fiind legate de procesele metabolice, relativ independent de ANF.

În 1953 Poulsen a descris un caz al unei femei cu diabet tip 1 ce a prezentat rezoluţia retinopatiei după necroză pituitară postpartum (30). De atunci, mulţi cercetători au urmărit ipoteza conform căreia hormonii pituitari anteriori, în special *hormonul de creştere (Growth Hormone - GH)* (tab. V), ar juca un rol în dezvoltarea complicaţiilor microvasculare ale diabetului zaharat. În plus, aşa cum am arătat mai devreme şi în timpul pubertăţii apar modificări semnificative ale echilibrului hormonal, implicând în primul rând GH, IGF-1 şi hormonii steroizi. În timp ce majoritatea investigatorilor au demonstrat importanţa GH în iniţierea şi dezvoltarea retinopatiei, rolul acestuia în nefropatia diabetică a fost mai greu de documentat. Wiseman MJ et al. au efectuat un studiu în care au comparat nivelele de GH şi glucagon între pacienţii cu diabet tip 1 cu hiperfiltrare, cei cu rata filtrării glomerulare (GFR - glomerular filtration rate) în limite normale şi un lot control de pacienţi nediabetici, nedemonstrând nici o corelaţie între valorile crescute ale acestor hormoni la pacienţii cu diabet şi GFR (31). Spre deosebire de acest grup, Blankestijn PJ et al. au demonstrat că există o relaţie pozitivă între nivelele de GH şi GFR. Pacienţii cu hiperfiltrare au necesitat doze mai mari de insulină şi au prezentat valori ale glicemiei mai frecvent sub valorile de activare a secreţiei de GH şi excursii glicemice mai frecvente faţă de pacienţii cu normofiltrare. Acest articol sugerează rolul hipersecreţiei GH în dezvoltarea hiperfiltrării şi nefropatiei diabetice prin intermediul variabilităţii excursiilor glicemice (32). Krawczuk-Rybak M arată că secreţia crescută de GH şi IGF-1 (Insulin Growth Factor -1) joacă un rol important în dezvoltarea retinopatiei şi nefropatiei diabetice prin efectul asupra controlului glicemic, în special în perioada prepubertară şi pubertară (33). În 1992 Plumb M et al. descriu cazul unei femei cu diabet tip 1 de lungă durată, complicat cu retinopatie şi nefropatie, ale cărei complicaţii s-au stabilizat după dezvoltarea deficienţei de GH (34). Într-un studiu în care s-a urmărit corelaţia eliminării urinare de hormon de creştere cu eliminarea urinară de albumină şi controlul glicemic s-a observat că eliminarea urinară de hormon de creştere (UGH - Urinary Growth Hormone) este mult crescută la pacienţii diabetici, existând o corelaţie strânsă a acesteia cu eliminarea urinară de albumină şi $\beta 2$ - microglobulină. De asemenea, UGH a scăzut semnificativ odată cu îmbunătăţirea controlului glicemic. Deci, corelaţia UGH cu UAE este un semn că acest hormon intervine în dezvoltarea nefropatiei diabetice şi poate fi chiar un marker al bolii renale, studiul reducerii reabsorbţiei tubulare a acestui hormon putând aduce noi date în patogenia bolii renale diabetice (35,36,37). În sprijinul studiilor umane privind rolul GH ca factor implicat în nefropatia diabetică vin şi datele unui experiment pe model animal în care administrarea unui antagonist al receptorului pentru GH a condus la diminuarea hipertrofiei şi a microalbuminuriei, concomitent cu scăderea nivelelor de IGF-1 renale fără afectarea nivelelor sistemice ale GH sau IGF-1, demonstrând implicarea GH în calea patogenică a nefropatiei diabetice cu IGF-1 ca potenţial mediator în aval de receptorul pentru GH (38,39) Aceste date interpretate în contextul numeroaselor dovezi de pe modele animale, ce leagă aceşti hormoni de hipertrofia renală / glomerulară (40,41,42, 43) pot explica implicarea axei GH/IGF-1 în evenimentele precoce ale nefropatiei diabetice declanşate în timpul pubertăţii, când are loc activarea acestei axe.

În timp ce nivelele de GH sunt semnificativ crescute la pacienţii diabetici comparativ cu nediabetici, nivelele de IGF-1 sunt raportate a fi similare sau mai scăzute la pacienţii cu diabet tip 1 comparativ cu cei nediabetici (44,45). Unul dintre primele articole ce arătau *rolul secreţiei de IGF-1* (tab. VI) în patogenia nefropatiei diabetice a fost cel al lui Krawczuk-Rybak M şi Urban M. Ei au arătat rolul IGF-1 atât în nefropatia diabetică cât şi în retinopatie (33). Verrotti A et al. au arătat că pacienţii microalbuminurici au nivele plasmatice crescute de IGF-1 şi eliminarea urinară crescută de GH şi IGF-1 (46). Un alt studiu ce a comparat nivelele circulante şi urinare ale IGF-1 la pacienţii cu diabet tip 1 nu a găsit nici o corelaţie între nivelul plasmatic al IGF-1 şi prezenţa sau absenţa microalbuminuriei, în schimb valorile urinare ale GH şi IGF-1 au fost mult crescute la pacienţii microalbuminurici comparativ cu cei normoalbuminurici. De asemenea, nivelul urinar al IGF-1 a prezentat o strânsă asociere cu KV, marker important al hipertrofiei glomerulare (36).

Aceste date sunt concordante cu cele de

TABELUL V

Rolul nivelului GH în dezvoltarea bolii renale diabetice

Concluzia studiului privind rolul nivelului Growth hormone	**Nu influenţează BRD**	**Este factor de risc pentru BRD**
Referinţă	31	32, 33, 34, 35*, 36*, 37*

*** nivelul urinar de GH**

TABELUL VI

Rolul nivelului IGF-1 în dezvoltarea bolii renale diabetice

Concluzia studiului privind rolul nivelului Insulin-like Growth Factor (IGF-1)	**Nu influenţează BRD**	**Este factor de risc pentru BRD**
Referinţă	-	33, 36*, 46*

*** nivelul urinar de IGF-1**

TABELUL VII
Rolul nivelului estradiolului în dezvoltarea bolii renale diabetice

Concluzia studiului privind rolul nivelului estradiolului	Nu influenţează BRD	Este factor de risc pentru BRD
Referinţă	50	51

pe modele animale, în care după inducerea diabetului se dezvoltă rapid nefromegalia, acompaniată de o creştere a nivelurilor renale ale IGF-1, în ciuda valorilor plasmatice neschimbate semnificativ (41,47,48), probabil prin creşterea secreţiei renale sau sechestrarea IGF-1 la nivelul receptorilor sau proteinelor de legare, în special IGF-binding protein-1 (36). De asemenea, circumstanţele care limitează creşterile renale ale IGF-1, ca de exemplu deficienţa de GH sau administrarea de somatostatin, limitează dezvoltarea hipertrofiei glomerulare, fapt ce demonstrează conlucrarea dintre GH/ IGF-1 în patogenia nefropatiei diabetice (41, 47,49).

Concluziile privind diferenţele de incidenţă pe sexe sunt neclare, date ale United States Renal Data System sugerând că *estrogenii* (tab. VII) nu protejează femeile cu diabet de glomeruloscleroză, deoarece nu există nici o diferenţă în ceea ce priveşte incidenţa bolii renale terminale datorită diabetului între femei şi bărbaţi cu vârsta cuprinsă între 20 - 64 ani (50). Mai mult decât atât, femeile cu diabet tip 1 sau 2 prezintă o incidenţă mult mai mare a afectării renale comparativ cu femeile nediabetice. Aceste date luate împreună sugerează anularea rolului sexului feminin ca factor renoprotectiv în diabet. Atât datele clinice cât şi cele experimentale sugerează că diabetul ar fi asociat cu o pierdere a echilibrului concentraţiilor estradiolului, suplimentarea cu 17-beta-estradiol sau administrarea unui modulator al receptorului estrogenic conducând la atenuarea progresiei nefropatiei (51).

Datele privind rolul nivelelor *testosteronului* asupra dezvoltării nefropatiei diabetice din studiile populaţionale sunt neclare. Evidenţele din studiile pe modele animale sugerează că administrarea de testosteron la animalele ovariectomizate conduce la o creştere semnificativă a incidenţei nefropatiei de la 16% la 92%. Această schimbare a incidenţei a fost direct corelată, de asemenea, cu o scădere a nivelelor de estradiol (52). Un alt studiu confirmă creşterea incidenţei nefropatiei, dar arată că aceasta nu se corelează cu nivelele de testosteron, ceea ce sugerează un mecanism indirect (53). Unii androgeni este posibil să prezinte efect antioxidativ. Dehidroepiandrosteronul (DHEA) pare să aibă efecte variabile în funcţie de doză şi de protocol. S-a demonstrat efectul antioxidant al DHEA la şobolanii cu diabet zaharat indus cu streptozotocină (54). Este astfel posibil ca bărbaţii (cu nivele crescute de testosteron) să fie mai predispuşi către leziunile datorate stresului oxidativ, în timp ce femeile (cu nivele mai scăzute de testosteron dar nivele echivalente DHEA) să fie relativ protejate (55).

În concluzie, pacientele care au afectare renală uşoară şi durată scurtă a diabetului au toate şansele să nu prezinte agravarea nefropatiei după naştere, în timp ce femeile cu durată lungă a diabetului, cu proteinurie şi rinichi mici au risc crescut de agravare a proteinuriei după sarcină mai ales dacă vor dezvolta sindrom nefrotic sau preeclampsie. Pubertatea pare a fi implicată în dezvoltarea nefropatiei diabetice, majoritatea studiilor indicând incidenţa mică a nefropatiei înainte de pubertate, unul din posibilele mecanisme fiind mediul hormonal particular de la pubertate cu nivele crescute de GH, IGF-1 şi hormoni steroizi. Datele privind rolul GH indică faptul că acesta este factor de risc pentru BRD, fiind posibil să fie implicat în declanşarea hipertrofiei glomerulare la pubertate, nivelele urinare ale hormonului putând fi marker precoce al bolii, deoarece se corelează puternic cu eliminarea urinară de albumină (UAE). De asemenea, deficienţa de GH pare a fi un mecanism protectiv. GH este strâns legat de IFG-1 ale cărui valori urinare sunt mult crescute la microalbuminurici, fiind puternic corelate cu UAE şi cu volumul rinichilor, marker important al hipertrofiei glomerulare. Evidenţele din studii populaţionale sunt destul de neclare privind rolul sexului masculin, al testosteronului şi estrogenilor ca posibili factori de risc pentru BRD. Totuşi, sexul masculin pare a avea un oarecare efect asupra incidenţei bolii, iar datele din studiile pe modele animale incriminează hormonii sexuali în dezvoltarea BRD, în ciuda mecanismului parţial necunoscut. Nivelele de ANF sunt un factor de risc pentru nefropatie deoarece acestea sunt crescute la pacienţii diabetici, însă joacă un rol în scăderea eliminării de Na şi hipertensiune doar în cazul unui control metabolic inadecvat şi în eliminarea urinară de albumină doar după modificarea încărcării electrice a barierei de filtrare, mecanismele timpurii ale declanşării nefropatiei diabetice fiind legate de procesele metabolice, relativ independent de ANF.

MULŢUMIRI

Acest articol face parte dintr-un proiect de cercetare susţinut de Consiliul Naţional al Cercetării Ştiinţifice din Învăţământul Superior (CNCSIS) - număr contract - PNCDI - II - RU - TD - 66/2007.

REFERENCES

1. Rogers DG, White NH, Shalwitz RA, Palmberg P, Smith ME, Santiago JV. The effect of puberty on the development of early diabetic microvascular disease in insulin-dependent diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 1987 ; 3 (1) : 39-44.
2. Kostraba JN, Dorman JS, Orchard TJ et al. Contribution of diabetes duration before puberty to development of microvascular complications in IDDM subjects. *Diabetes Care* 1989 ; 12 (10) : 686-693.
3. Vogt L, Jutzi E, Michaelis D. Different frequencies of diabetic complications in insulin-treated patients with diabetes of comparable duration, in relation to age at onset of diabetes. *Soz Praventivmed* 1992 ; 37 (5) : 231-236.
4. Janner M, Knill SE, Diem P, Zuppinger KA, Mullis PE. Persistent microalbuminuria in adolescents with type I (insulin-dependent) diabetes mellitus is associated to early rather than late puberty. Results of a prospective longitudinal study. *Eur J Pediatr* 1994 ; 153 (6) : 403-408.
5. Bognetti E, Calori G, Meschi F, Macellaro P, Bonfanti R, Chiumello G. Prevalence and correlations of early microvascular complications in young type I diabetic patients : role of puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1997 ; 10 (6) : 587-592.
6. Lawson ML, Sochett EB, Chait PG, Balfe JW, Daneman D. Effect of puberty on markers of glomerular hypertrophy and hypertension in IDDM. *Diabetes* 1996 ; 45 (1) : 51-55.
7. Martha PM, Reiter EO. Pubertal growth and growth hormone secretion. *Endocrinol Metab Clin N Am* 1991 ; 20 : 165-181.
8. Dicker D, Feldberg D, Peleg D, Karp M, Goldman JA. Pregnancy complicated by diabetic nephropathy. *J Perinat Med* 1986 ; 14 (5) : 299-307.
9. Berk MA, Miodovnik M, Mimouni F. Impact of pregnancy on complications of insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Perinatol* 1988 ; 5 (4) : 359-367.
10. Mackie AD, Doddridge MC, Gamsu HR, Brudenell JM, Nicolaides KH, Drury PL. Outcome of pregnancy in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and nephropathy with moderate renal impairment. *Diabet Med* 1996 ; 13 (1) : 90-96.

11. Reece EA, Winn HN, Hayslett JP, Coulehan J, Wan M, Hobbins JC. Does pregnancy alter the rate of progression of diabetic nephropathy? *Am J Perinatol* 1990 ; 7 (2) : 193-197.
12. Miodovnik M, Rosenn BM, Khoury JC, Grigsby JL, Siddiqi TA. Does pregnancy increase the risk for development and progression of diabetic nephropathy? *Am J Obstet Gynecol* 1996 ; 174 (4) : 1180-1189.
13. McCance DR, Harley JM, Maguire CF, Douglas JF, Hadden DR. Accelerated retinopathy and nephropathy in diabetic pregnancy. *Ir J Med Sci* 1991 ; 160 (5) : 137-139.
14. Biesenbach G, Stöger H, Zazgornik J. Influence of pregnancy on progression of diabetic nephropathy and subsequent requirement of renal replacement therapy in female type I diabetic patients with impaired renal function. *Nephrol Dial Transplant* 1992 ; 7 (2) : 105-109.
15. Purdy LP, Hantsch CE, Molitch ME et al. Effect of pregnancy on renal function in patients with moderate-to-severe diabetic renal insufficiency. *Diabetes Care* 1996 ; 19 : 1067-1074.
16. Biesenbach G, Janko O, Stöger H, Zazgornik J. Increases in serum lipids during pregnancy in type 1 diabetic women with nephropathy. *Diabet Med* 1994 ; 11 (3) : 262-267.
17. Yoshida A, Morozumi K, Takeda A, Koyama K, Oikawa T. Renal complications during pregnancy in a patient with diabetes mellitus. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 1994 ; 36 (11) : 1320-1324.
18. Kimmerle R, Zass RP, Cupisti S et al. Pregnancies in women with diabetic nephropathy : long-term outcome for mother and child. *Diabetologia* 1995 ; 38 (2) : 227-235.
19. Lauszus FF, Klebe JG, Rasmussen OW, Klebe TM, Dřrup J, Christensen T. Renal growth during pregnancy in insulin-dependent diabetic women. A prospective study of renal volume and clinical variables. *Acta Diabetol* 1995 ; 32 (4) : 225-229.
20. Orchard TJ, Dorman JS, Maser RE et al. Prevalence of complications in IDDM by sex and duration. Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study II. *Diabetes* 1990 ; 39 (9) : 1116-1124.
21. Andersen AR, Christiansen JS, Andersen JK, Kreiner S, Deckert T. Diabetic nephropathy in Type 1 (insulin-dependent) diabetes : an epidemiological study. *Diabetologia* 1983 ; 25 (6) : 496-501.
22. Holl RW, Grabert M, Thon A, Heinze E. Urinary excretion of albumin in adolescents with type 1 diabetes : persistent versus intermittent microalbuminuria and relationship to duration of diabetes, sex, and metabolic control. *Diabetes Care* 1999 ; 22 (9) : 1555-1560.
23. Raile K, Galler A, Hofer S et al. Diabetic nephropathy in 27,805 children, adolescents, and adults with type 1 diabetes : effect of diabetes duration, A1C, hypertension, dyslipidemia, diabetes onset, and sex. *Diabetes Care* 2007 ; 30 (10) : 2523-2528.
24. Seliger SL, Davis C, Stehman-Breen C. Gender and the progression of renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001 ; 10 (2) : 219-225.
25. Sawicki P, Heinemann L, Rave K, Berger M. Atrial natriuretic factor in patients with type 1 diabetes mellitus in various stages of diabetic nephropathy. *Z Kardiol* 1988 ; 77 Suppl 2 : 111-113.
26. McKnight JA, Roberts G, Sheridan B, Bell PM, Atkinson AB. Basal and stimulated plasma atrial natriuretic factor in patients with type 1 diabetes with and without nephropathy. *Diabet Med* 1991 ; 8 (8) : 765-769.
27. Jungmann E, Galette A, Hopfenmüller B, Palitzsch KD, Scherberich J, Usadel KH. Effect of metabolic control on the renal effects of human atrial natriuretic peptide-(95-126) (urodilatin) in normotensive patients with type I diabetes mellitus. *Med Klin* 1992 ; 87 (5) : 242-246.
28. Jungmann E, Felber A, Graeber S et al. Human atrial natriuretic peptide in patients with type 1 diabetes mellitus : is it related to the development of diabetic nephropathy? *Clin Investig* 1993 ; 71 (8) : 604-609.
29. Zietse R, Derkx FH, Weimar W, Schalekamp MA. Effect of atrial natriuretic peptide on renal and vascular permeability in diabetes mellitus. *J Am Soc Nephrol* 1995 ; 5 (12) : 2057-2066.
30. Poulsen JE.Recovery from retinopathy in a case of diabetes with Simmonds' disease. *Diabetes* 1953 ; 2 (1) : 7-12.
31. Wiseman MJ, Redmond S, House F, Keen H, Viberti GC. The glomerular hyperfiltration of diabetes is not associated with elevated plasma levels of glucagon and growth hormone. *Diabetologia* 1985 ; 28 (10) : 718-721.
32. Blankestijn PJ, Derkx FH, Birkenhäger JC et al. Glomerular hyperfiltration in insulin-dependent diabetes mellitus is correlated with enhanced growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1993 ; 77 (2) : 498-502.
33. Krawczuk-Rybak M, Urban M. The role of growth hormone in the development of complications in insulin-dependent diabetes. *Paediatr Grenzgeb* 1991 ; 30 (3) : 237-243.
34. Plumb M, Nath K, Seaquist ER. Hypopituitarism stabilizes the renal and retinal complications of diabetes mellitus. *Am J Nephrol* 1992 ; 12 (4) : 265-267.
35. Turner G, Coates P, Porter S, Peters JR, Woodhead JS.Urinary growth hormone measurements as a marker of renal tubular function in diabetes mellitus. *Clin Chim Acta* 1993 ; 220 (1) : 19-30.
36. Cummings EA, Sochett EB, Dekker MG, Lawson ML, Daneman D. Contribution of growth hormone and IGF-I to early diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes* 47 (8) : 1341-1346.
37. Verrotti A, Cieri F, Petitti MT, Morgese G, Chiarelli F. Growth hormone and IGF-I in diabetic children with and without microalbuminuria. *Diabetes Nutr Metab* 1999 ; 12 (4) : 271-276.
38. Segev Y, Landau D, Rasch R, Flyvbjerg A, Phillip M. Growth hormone receptor antagonism prevents early renal changes in nonobese diabetic mice. *J Am Soc Nephrol* 1999 ; 10 (11) : 2374-2381.
39. Flyvbjerg A, Bennett WF, Rasch R, Kopchick JJ, Scarlett JA. Inhibitory effect of a growth hormone receptor antagonist (G120K-PEG) on renal enlargement, glomerular hypertrophy, and urinary albumin excretion in experimental diabetes in mice. *Diabetes* 1999 ; 48 (2) : 377-382.
40. Chen N-Y, Chen WY, Bellush L et al. Effects of streptozotocin treatment in growth hormone (GH) and GH antagonist transgenic mice. *Endocrinol* 1995 ; 136 : 660-667.
41. Flyvbjerg A, Frystyk J, Osterby R, Orskov H. Kidney IGF-I and renal hypertrophy in GH-deficient diabetic dwarf rats. *Am J Physiol* 1992 ; 262 : 956-962.
42. Kochakian CD. Body and organ weights and composition. In : Kochakian CD editor. *Anabolic Andogenic Steriods*. New York : Springer- Verlag, 1976, 106-154.
43. Yoshida Y, Fogo A, Ichikawa I. Glomerular hemodynamic changes vs. hypertrophy in experimental glomerular sclerosis. *Kidney Int* 1989 ; 35 : 654-660.
44. Salardi S, Cacciari E, Vallardini D et al. Relationships between growth factors (somatomedin C and growth hormone) and body development, metabolic control, and retinal changes in children and adolescents with IDDM. *Diabetes* 1986 ; 35 : 832-836.
45. Clayton KL, Holly JM, Carlsson LM et al. Loss of the normal relationships between growth hormone, growth hormone binding protein and insulin-like growth factor-I in adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Endocrinol* 1994 ; 41 : 517-524.
46. Verrotti A, Cieri F, Petitti MT, Morgese G, Chiarelli F. Growth hormone and IGF-I in diabetic children with and without microalbuminuria. *Diabetes Nutr Metab* 1999 ; 12 (4) : 271-276.
47. Muchaneta-Kubara EC, Sayed-Ahmed N, Besbas N, Zhang G, Cope GH, El Nahas AM. Experimental diabetic renal growth : role of growth hormone and insulin-like growth factor-I. *Nephrol Dial Transplant* 1994 ; 9 : 1395-1401.
48. Bach LA, Jerums G. Effect of puberty on initial kidney growth and rise in kidney IGF-I in diabetic rats. *Diabetes* 1990 ; 39 : 557-562.
49. Flyvbjerg A, Bornfeldt KE, Marshall SM, Arnqvist HJ, Orskov H. Kidney IGFI mRNA in initial renal hypertrophy in experimental diabetes in rats. *Diabetologia* 1990 ; 33 : 334-338.
50. *** U.S. Renal Data System 2000 USRDS 2000 Annual data report. 2nd ed. Bethesda, MD : NIH, NIDDK.
51. Maric C, Sullivan S. Estrogens and the diabetic kidney. *Gend Med* 2008 ; 5 Suppl A : S103-S113.
52. Cohen AM, Rosenmann E. Male sex hormone and nephropathy in Cohen diabetic rat. (Genetically selected sucrose fed). *Diabete Metab* 1984 ; 10 (3) : 199-205.
53. Sun J, Devish K, Langer WJ, Carmines PK, Lane PH. Testosterone treatment promotes tubular damage in experimental diabetes in prepubertal rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007 ; 292 (6) : F1681-F1690.
54. Aragano, M, Tamagno E, Gatto V et al. Dehydroepiandrosterone protects tissues of streptozotocin-treated rats against oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 1999 ; 26 : 1467-1474.
55. Lane PH. Diabetic kidney disease : impact of puberty. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002 ; 283 (4) : F589-F600.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE ACTUALITĂŢI

VENTILAŢIA NON INVAZIVĂ : CUM, CÂND ŞI DE CE ?

Elena Cristina Mitrofan
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Disciplina de Pneumologie

NON INVASIVE VENTILATION : HOW, WHEN AND WHY ? (Abstract) : Use of non invasive ventilation (NIV), the delivery of mechanical ventilation without endotracheal intubation, is increasing among patients with acute and chronic respiratory failure, mainly becouse of its convenience, lower cost, morbidity sparing potential compared with standard invasive technique. An understanding of the technical equipment, the classification, modes of ventilation and the selection of an appropiate interface are necessary for the best outcomes. The parameters which should be monitored during noninvasive ventilation are presented. The majority of studies have used pressure-targeted ventilation in the assist mode. Positive qualities of pressure support ventilation (PSV) are leak compensation, good patient/ventilator synchrony and the option of integrated positive end-expiratory pressure to counteract the effect of dynamic hyperinflation. The interface between patient and ventilator is a crucial issue of noninvasive ventilation. Advantages and disadvantages of face and nasal masks are discussed. The beneficial effects of NIV have been demonstrated in patients with respiratory acidosis (pH<7.35). Arterial blood gas tensions should be measured in most patients with acute breathlessness. **Key words** : NON INVASIVE VENTILATION, RESPIRATORY FAILURE, RESPIRATORY ACIDOSIS

Ventilaţia non invazivă se referă la furnizarea unei ventilaţii mecanice plămânilor, utilizând tehnici care nu necesită o cale endotraheală. La începutul secolului al XX-lea ventilaţia non invazivă cu presiuni negative a fost principala modalitate de a asigura ventilaţie mecanică în afara unitaţilor de anestezie si terapie. Ultima decadă a fost dominată de o largă utilizare a ventilaţiei non invazive, mai ales datorită dezvoltării ventilaţiei nazale, care are potenţialul de a asigura o siguranţă mai mare, confort, costuri mai mici decât cele ale ventilaţiei invazive.

ISTORIC

Primele ventilatoare non invazive, erau aşa numitele corpuri-ventilatoare, care aplicau presiuni negative sau pozitive pe anumite regiuni ale corpului. Fizicianul scoţian John Dalziel, în 1838, se referea la dispozitive ce generau presiuni negative (1). În 1931, J.H. Emerson, din Massachusetts, a construit o variantă mai simplă, silenţioasă şi mai ieftină, care putea fi utilizată cu sursă de energie manuală în eventualitatea unei pene de curent. Acest aparat a devenit cea mai utilizată versiune de suport ventilator la pacienţii cu paralizie respiratorie determinată de poliomielită, între 1930 si 1960 fabricându-se mii de astfel de aparate (1). Epidemia de poliomielită din Copenhaga, în 1952, a fost evenimentul care a condus spre marea schimbare (1), cele câteva ventilatoare disponibile fiind suprautilizate de către sute de pacienţi, iar medicii şi pacienţii fiind depăşiţi de manevrele de anestezie pentru ventilaţia invazivă. Ventilaţia cu presiuni pozitive intermitente, utilizată pentru prima data în 1947 (1), administrată prin intermediul unei piese bucale, a cunoscut o largă utilizare până în 1980, mai ales in serviciile de terapie intensivă din Statele Unite. Fraimow (1), a observat că utilizarea ventilaţiei cu presiuni pozitive intermitente (IPPB), ar conduce la reversibilitatea creşterii Pa_{CO_2}, ce apare la pacienţii cu emfizem sever la care se administrează oxigen.

DE CE ?

Creşterea utilizării VNI a fost determinată de necesitatea evitării complicaţiilor ventilaţiei invazive : a) complicaţii directe legate de procesul de intubare şi ventilaţie mecanică, b) legate de pierderea mecanismelor de apărare ale căilor aeriene, precum şi c) complicaţiile care apar după scoaterea tubului endotraheal. La acestea se adaugă echipamentele sofisticate, precum şi costurile mari (2). VNI permite eliberarea căilor respiratorii superioare, lăsându-le intacte ; menţine mecanismele de apărare ale acestora, permite pacienţilor să se alimenteze, să bea, să vorbească, să expectoreze. Studiile recente au arătat ca NPPV reduce complicaţiile infecţioase determinate de ventilaţia invazivă, printre acestea fiind pneumoniile nozocomiale şi sinuzitele (3,4). Mai mult chiar, VNI poate fi administrată în afara serviciilor de terapie intensivă, în condiţiile unei asistenţe medicale, precum şi a unui suport terapeutic respirator adecvat, permiţând astfel şi tratamentul pacienţilor respiratori cronici la domiciliu.

ECHIPAMENTE ŞI TEHNICI DE VENTILAŢIE

Se referă la descrierea echipamentului disponibil pentru administrarea ventilaţiei non invazive. Atunci când asigură suport, un ventilator poate controla patru variabile în timpul inspirului : presiune, volum, debit şi timp. Când un aparat controlează o variabilă, curba acesteia în timpul inspirului va rămâne neschimbată de la o respiraţie la alta, indiferent dacă rezistenţa şi complianţă se modifică (5). Cele mai moderne ventilatoare sunt fie cu controlul presiunii, fie cu controlul fluxului.

A. Ventilatoare cu controlul presiunii

Indiferent dacă ventilatorul utilizează presiuni pozitive sau negative, gradientul transpulmonar de presiune determină volumul curent (VT). Un ventilator controlat în presiune, delivrează o presiune presetată, şi această variabilă este nemodificată de schimbările complianţei şi rezistenţei pulmonare. Un ventilator cu presiuni pozitive aplică o presiune în interiorul toracelui pentru a-l expansiona utilizând o interfaţa non invazivă sau o cale artficială. Cele care delivrează presiuni negative, aplică o presiune subatmosferică în exteriorul plămânului.

B. Ventilatoare cu controlul debitului

Dacă debitul este măsurat şi utilizat pentru a delivra un volum presetat, atunci ventilatorul este considerat a fi un aparat ce controlează debitul (4). În cele mai multe cazuri o ventilaţie cu volum presetat este considerată a fi asigurată de un aparat care măsoară fluxul şi utilizează fluxul raportat la timp.

C. Ventilatoare cu controlul volumului

Aceste ventilatoare, din ce în ce mai rar utilizate, au ca principală caracteristică măsurarea directă a volumul delivrat. Odată înteles mecanismul primar de control al unui ventilator, trebuie înţeles modul în care acesta porneşte, menţine şi opreşte inspirul, şi ce se află intre două inspiruri. Un ciclu ventilator poate fi împărţit în patru faze : 1) trecerea de la expir la inspir ; 2) inspirul ; 3) trecerea de la inspir la expir ; 4) expirul. În fiecare fază o anumită varibilă este măsurată şi utilizată pentru a schimba o fază cu alta.

D. Interfeţele

In ciuda creşterii utilizării VNI, este raportată o rată a eşecurilor de aproximativ 40%, iar una dintre cele mai des intâlnite cauze ar fi intoleranţa măştii. Atât masca nazală cât şi cea facială au fost utilizate cu succes în decompensările acute ale BPOC. Dar potrivit unor studii recente masca faciala sau full-face s-a dovedit a fi cel mai bine tolerată, în insuficienţelor respiratorii acute. Nava et al., într-un studiu (8) realizat pentru evaluarea efectelor ventilaţiei cu trei tipuri diferite de măşti, a concluzionat că este mai important tipul de mască folosit decât modul ventilator utilizat, iar masca nazală ramâne prima alegere în iniţierea ventilatiei, la pacienţii cronici.

MODURI DE VENTILAŢIE NON INVAZIVĂ (VNI)

Terminologia utilizată pentru a descrie diferite moduri de VNI poate conduce la confuzii. Nu există o standardizare folosită de fabricanţi, iar din păcate fiecare mod poate căpata un nume diferit pe aparate diferite.

A. Ventilaţia mecanică controlată (CMV)

În acest mod este asigurat un suport ventilator complet de către aparat, nefiind necesar un efort din partea pacientului pentru declanşarea respiraţiei.

Presiunea de inspir şi volumul curent sunt setate, la fel ca şi frecvenţa respiratorie şi timpul total pentru fiecare respiraţie. În ventilaţia cu presiune controlată (Pression Controled Ventilation - PCV) volumul curent rezultat depinde de rezistenţa la flux a tubulaturii ventilatorului, de orice limitare a fluxului aerian, precum si de complianţa plămânilor şi a cutiei toracice. În ventilaţia cu volume controlate (volume controled ventilation - VCV), volumul curent este setat iar presiunea rezultată, necesară delivrării acestui volum, depinde de complianţa circuitului şi de mecanica toracică. Unele ventilatoare permit timpului de creştere a presiunii, să evolueze de la o creştere rapidă la una lentă.

B. Ventilaţia asistată/controlată (Assist/ Control Ventilation - ACV)

În acest mod ventilator un număr presetat de respiraţii pe minut vor fi realizate în absenţa efortului pacientului. La fel ca şi la CMV, respiraţiile realizate de ventilator sunt determinate de volumul sau presiunea presetată, precum şi de durata inspirului şi expirului. Declanşarea respiraţiei de către pacient este permisă, dar ventilatorul delivrează o respiraţie indentică cu cea a mandatorului de respiraţii. Acest mod este câteodată denumit Spontaneous/Timed (S/T) sau mod IE pe dispozitivele pentru VNI.

C. Respiraţia spontană asistată (Pressure-Support - PS)

Eforturile respiratorii spontane ale pacientului declanşează respiraţia. Frecvenţa respiratorie şi timpul fiecărei respiraţii este determinat de către pacient. Cum acest mod implică o presetare a presiunii, termenul cel mai des folosit este de suport presional (Pressure Support - PS). Dacă pacientul nu reuşeşte să facă efortul respirator, nu va apărea o asistenţă respiratorie din partea aparatului. În acest caz, sunt unii fabricanţi care încorporează în memoria aparatului, o frecvenţă de bază de 6-8 respiraţii pe minut.

D. Presiunea continuă pozitivă (Continuous Positive Airway Pressure - CPAP)

Acest mod ventilator,nu este considerat un suport ventilator, este utilizat în insuficienţa respiratorie acută pentru a corecta hipoxia, permiţând inspirul unei cantităţi de oxigen mai mare decât ar permite orice altă metodă de suplimentare a oxigenului, îmbunătăţind ventilaţia pe ariile pulmonare colabate. CPAP nu foloseşte muschii inspiratori şi astfel reduce efortul inspirator. În caz de insuficienţă respiratorie determinată de BPOC - (bronhopneumopatia cronică obstructivă), echilibrarea presiunii pozitive expiratorii intrinseci (PEEPi) prin CPAP, poate reduce efortul ventilator rezultând o frecvenţă respiratorie mai mică, o creştere a ventilaţiei alveolare, o scădere a Pa_{CO_2}.

E. Suportul ventilator cu două nivele de presiune - BIPAP

În VNI, suportul presional şi CPAP, sunt adesea folosite în combinaţie, ca un suport presional cu două nivele. Ventilaţia este produsă de presiunea pozitivă inspiratorie, în timp ce presiunea pozitivă expiratorie (EPAP), recrutează zone subventilate şi echilibrează presiunea intrinsecă pozitivă la sfârşitul expirului (PEEPi). De asemenea EPAP serveşte la evacuarea aerului expirat prin orificiul special prevăzut pentru exhalare.

F. Ventilaţia proporţional asistată (PAV)

Este o tehnică alternativă în care atât fluxul pentru a contracara rezistenţa cât şi volumul pentru a contracara complianţa sunt independent ajustate. Acestea pot îmbunătăţi comfortul, succesul şi complianţa în VNI (6). Ventilatorul amplifică efortul inspirator al pacientului fără presetarea unui volum sau a unei presiuni. PAV asigură un „muşchi adiţional" sub conducerea ventilatorie a pacientului, determinând respiraţii mai profunde şi mai rapide (7).

ACCESORII

A. Umidificatoarele

Sunt necesare, în special, în următoarele situaţii: suplimentarea cu oxigen, prezenţa secreţiilor, simptomatologia căilor aeriene superioare, atmosfera rece şi uscată, precum şi în timpul nopţii. Atunci când se utilizează umidificatoare încălzite, condensarea apei poate fi minimă dacă se izolează circuitul pacientului fie prin acoperire, fie cu nişte „ciorapi tubulari".

B. Oxigenul

Oxigenul va fi suplimentat prin adiţionarea unui debit constant, scăzut de oxigen, la circuitul ventilatorului. Existenţa pierderilor va scădea fracţia oxigenului inspirat, de aceea este de dorit o monitorizare intermitentă a saturaţiei O_2, pentru a asigura oxigenul necesar în timpul somnului. Concentraţia în oxigen va fi astfel titrată încât saturaţia oxigenului să nu depăşească valoarea de 90%.

C. Alarmele

În VNI alarmele informează asupra presiunii, fluxului sau volumului. O alarmă pentru presiuni mici detectează pierderile excesive sau deconectările de la sistem, prevenind scăderea presiunilor sub valoarea setată. Alarmele pentru flux sunt mult mai informative şi pot atenţiona când sunt modificări ale pierderilor aeriene, când se agravează obstrucţia bronşică, ocluzia parţială a tubului ventilatorului.

D. Bateriile

Îmbunătăţirea tehnologiei bateriilor a permis utilizarea bateriilor cu litiu, care asigură o sursă energie de durată şi sigură. Ventilatoarele care funcţionează cu o turbină, necesită surse de energie mai mare şi până recent bateriile care asigurau o autonomie de cel puţin 4 ore, erau foarte mari. Îmbunătăţirea tehnologiei a permis utilizarea ventilatoarelor mici şi uşoare, cu multe posibilitaţi de alegere a modurilor, dotate cu baterii care se pot reâncărca.

INDICAŢIILE VNI

Ventilaţia non invazivă are un număr foarte mare de indicaţii: 1. Insuficienţa respiratorie hipercapnică: decompensări acute ale BPOC, status astmaticus, maladii neuromusculare. 2. Insuficienţa respiratorie hipoxemică: pneumonii severe, traumatisme toracice nepenetrante, edemul pulmonar acut cardiogen, insuficienţa respiratorie postoperatorie, sindromul de detresă respiratorie acută (SDRA). 3. Alte indicaţii: pacient care refuză intubaţia oro-traheală, insuficienţa respiratorie post extubaţie, sevrajul ventilaţiei mecanice. Pentru a realiza o bună selecţie a pacienţilor în vederea ventilaţiei non invazive eficiente, pacienţii trebuie să prezinte următoarele caracteristici: cooperanţi; bolnavi dar nu muribunzi; cu stabilitate hemodinamică; care nu au nevoie de intubaţie traheală (IT); cu $Pa_{CO2} > 45$ mmHg; $7,10 < pH < 7, 35$.

CONTRAINDICAŢII

Indicaţiile ventilaţiei noninvazive sunt în continuă extindere. Nu există contraindicaţii absolute în utilizarea VNI, totuşi câteva au fost sugerate (9,10). Acestea includ coma sau confuzia, imposibilitatea protejării căilor aeriene, acidoza severă la prezentarea în spital, comorbidităţi semnificative, vărsăturile, obstrucţia intestinală, instabilitatea hemodinamică (două studii au arătat doar mici modificări ale debitului cardiac la iniţierea VNI (10), rareori fiind văzut un colaps hemodinamic comparabil cu cel întâlnit la pacienţii intubaţi. În mare parte aceste contraindicaţii rezultă, de fapt, din criteriile de excludere ale pacienţilor din diverse studii controlate din VNI, de fapt eficienţa VNI nefiind dovedită în aceste cazuri. Astfel VNI poate fi folosită cu succes chiar şi în cazul pneumotoraxului (11), totuşi în cele mai multe cazuri a fost recomandată instalarea unui tub de dren intercostal, înaintea instituirii ventilaţiei. VNI poate fi indicat, în ciuda prezenţei acestei contraindicaţii, ca o ultimă alternativă la tratament.

FACTORII PREDICTORI AI SUCCESULUI

În ventilaţia non invazivă pot fi rezumaţi după cum urmează: complianţă bună din partea pacientului; comunicarea bună; scor neurologic bun; coordonarea respiraţiei cu ventilatorul; pierderi mici aeriene; stabilitate hemodinamică; dentiţia intacta; hipercapnie, dar nu prea severă ($Pa_{CO_2} > 45$ mmHg, < 92 mmHg); vârsta tânără, absenţa afecţiunilor comorbide sau un număr restrâns al acestora, acidoză, dar nu prea severă ($7,10 < pH > 7,35$); îmbunătăţirea schimburilor gazoase; a frecvenţei cardiace şi a frecvenţei respiratorii în primele două ore.

MONITORIZAREA PACIENŢILOR CU VNI

Ar trebui să includă evaluarea clinică a acestora combinată cu pulsoximetria şi recoltarea gazometriei arteriale. Monitorizarea poate să difere în funcţie de locul unde s-a instituit ventilaţia, de etiologia insuficienţei respiratorii, precum şi de prezenţa comorbidităţilor. Semnele clinice care trebuiesc evaluate in timpul ventilaţiei sunt: mişcările respiratorii ale toracelui, recrutarea musculaturii accesorii, ritmul cardiac, confortul pacientului, statusul mental. Este important să se efectueze gazometria arterială, la 1-2 ore după iniţierea VNI, precum şi repetarea acesteia la 4-6 ore după ce s-a obţinut o mică ameliorare. Dacă după acest interval nu se remarcă nici o îmbunătăţire, se are în vedere intubaţia pacientului, în funcţie de indicaţie. Saturaţia oxigenului ($SatO_2$), va fi monitorizată permanent în primele 24 de ore, administrarea suplimentară a oxigenului se va face pentru o $Sat\ O_2$ la valori cuprinse între 85% şi 90%.

BIBLIOGRAFIE

1. Mehta S, Hill NS. Noninvasive ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001 ; 163 : 540-577.
2. Bach JR, Intintola P, Alba AS, Holland I. The ventilator-assisted individual cost analysis of institutionalization versus rehabilitation and in-home management. *Chest* 1992 ; 101 : 26-30.
3. Antonelli M, Conti G, Rocco M et al. A comparison of noninvasive positive-pressure ventilation and conventional mechanical ventilation in patients with acute respiratory failure. *N Engl J Med* 1998 ; 339 : 429-435.
4. Chatburn RL, Primiano FP. A new system for understanding modes of mechanical ventiation. *Resp Care* 2001 ; 46 (6) : 604-212.

5. Schonhofer B, Sonnegom M, Haidl P et al. Comparison of two different modes for noninvasive mechanical ventilation in chronic respiratory failure : volume versus pressure controlled device. *Eur Respir J* 1997 ; 10 : 184-191.
6. Younes M. Proportional assist ventilation : a new approach to ventilatory support. *Am Rev Respir Dis* 1992 ; 145 : 114-20.
7. Younes M. Proportional assist ventilation. In Tobin MJ editor. *Principles and Practice of Mechanical Ventilation*. New York : McGraw-Hill, 1994 : 349-369.
8. Navalesi P, Fanfulla F, Frigerio P, Gregoretti C, Nava S. Physiologic evaluation of noninvasive mechanical ventilation delivered with three types of masks in patients with chronic hypercapnic respiratory faylure. *Crit Care Med* 2000 ; 28(6) : 1785-1790.
9. Soo Hoo GW, Santiago S, Williams AJ. Nasal mechanical ventilation for hypercapnic respiratory failure in chronic obstructive pulmonary disease : determinants of success and failure. *Crit Care Med* 1994 ; 22 : 1253-1261.
10. Ambrosino N, Foglio K, Rubini F et al. Non-invasive mechanical ventilation in acute respiratory failure due to chronic obstructive airways disease : correlates for success. *Thorax* 1995 ; 50 : 755-757.
11. Haworth CS, Dodd ME, Woodcock AA et al. Pneumothorax in adults with cystic fibrosis dependent on nasal intermittent positive pressure ventilation (NIPPV) : a management dilemma. *Thorax* 2000 ; 55 : 620-622.

NOUTĂŢI

REZULTATELE TRIALULUI ALLAY ÎN CARDIOPATIA HIPERTENSIVĂ

Efectul adiţional al drogurilor antihipertensive în combaterea hipertrofiei ventriculare stângi este esenţial deoarece aceasta este un predictor independent pentru morbiditatea şi mortalitatea cardiovasculară. Având în vedere că inhibitorii sistemului renină-angiotensină-aldosteron sunt deja cunoscuţi pentru efectul lor de regresie a hipertrofiei ventriculare stângi, studiul de faţă îşi propune să compare efectul aliskirenului, un inhibitor direct al reninei cu administrare orală, cu blocantul receptorilor de angiotensină losartan sau cu adminstrarea celor două substanţe în asociere pentru a evidenţia diferenţele în combaterea hipertrofiei ventriculare stângi. Studiul a randomizat 465 pacienţi cu hipertensiune arterială şi hipertrofie ventriculară stângă, cu indice de masă corporală de peste 25 kg/m^2, care au primit aliskiren 300 mg, losartan 100 mg sau combinaţia lor la aceleaşi doze, timp de 9 luni. Atunci când valorile tensionale nu au fost controlate suficient s-au adăugat şi alte substanţe antihipertensive, cu excepţia beta-blocantelor şi a altor reprezentanţi ai inhibitorilor sistemului renină-angiotensină-aldosteron. Pentru evaluarea hipertrofiei ventriculare sângi s-a practicat rezonanţa magnetică la începutul şi sfârşitul studiului. Tensiunea arterială sistolică şi diastolică a fost redusă similar în grupurile de tratament ($6.5 \pm 14.9/3.8 \pm 10.1$ mm în grupul cu aliskiren, $5,5 \pm 15,6/3,7 \pm 10,7$ mm Hg în grupul cu losartan şi $6,6 \pm 16,6/4,6 \pm 10,5$ mm Hg la pacienţii trataţi cu combinaţia losartan + aliskiren, $p < 0,0001$ faţă de grupul de control şi $P = 0,81$ între grupurile de tratament). Indexul de masă a fost redus semnificativ în toate grupurile de tratament (4,9-, 4,8-, şi 5,8 g/m^2 reducere în grupul tratat cu aliskiren, losartan, şi grupul de combinaţie, respectiv, $p < 0,0001$), dar tratamentul combinat nu a fost mai eficient. Tolerabilitatea şi siguranţa au fost asemănătoare. În concluzie, aliskirenul se dovedeşte la fel de eficient ca şi losartanul în reducerea valorilor tensionale şi în regresia hipertrofiei ventriculare stângi (Solomon SD, Appelbaum E et al. Effect of the direct renin inhibitor aliskiren, the angiotensin receptor blocker Losartan, or both on left ventricular mass in patients with hypertension and left ventricular hypertrophy. *Circulation* 2009 ; 119 : 530-537).

Corina Dima-Cozma

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

ACTUALITĂŢI

EVACUAREA MEDICALĂ - PARTE INTEGRANTĂ A MANAGEMENTULUI PRESPITALICESC A PACIENTULUI TRAUMATIZAT

Luciana Rotaru[1], A. Rotaru[2], Cristiana Geormăneanu[3], Diana Cimpoeşu[4]
Universitatea de Medicină şi Farmacie Craiova
Facultatea de Medicină
Spitalul Clinic de Urgenţă Craiova
1. Disciplina Medicină de urgenţă, UPU - SMURD
2. Disciplina patologie chirurgicală, Clinica I Chirurgie
3. Disciplina nursing general UPU - SMURD
Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr.T. Popa” Iaşi
Facultatea de Medicină
Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă „Sfântul Spiridon” Iaşi
4. Disciplina Medicină de urgenţă UPU - SMURD

MEDICAL EVACUATION - PART OF PREHOSPITAL MANAGEMNT OF TRAUMA PATIENT (Abstract): Medical evacuation, is a complex action, very much protocolised, with multiple aspects related to a serial data about trauma mechanisms, clinical situation, temporal standards, specific competences. The medical team have to decide which is the fastest, less traumatic, most correct and appropriate possibility for each specific pacient , and to manage all the facillities to realise these aims. Medical evacuation as a part of integrative management for the trauma pacient could affect significantly either the survival chance and the rehabilitation and depends on rules that have to be in relationship with the pacient condition and mechanisms of trauma, distances, medical abilities and competences of the different trauma centers as an evacuation destinations - the performant comunication and interconection between these all links beeing indispensable.

Key words: MAJOR TRAUMA, MEDICAL EVACUATION, GOLDEN HOUR

Evacuarea medicală este o acţiune complexă, protocolizată strict, care presupune mai multe aspecte, fiecare dintre acestea fiind condiţionate ca rezolvare de o serie de elemente de dinamică a traumei, situaţie clinică a pacientului, standarde de timp şi competenţe specifice etc. Echipa medicală va trebui să aprecieze ţinând cont de toate acestea care este cea mai rapidă, mai puţin traumatizantă, mai corectă şi mai potrivită posibilitate pentru fiecare pacient în parte şi să gestioneze optim toate mijloacele disponibile pentru a putea realiza aceste deziderate.

Decizia de evacuare a pacientului trebuie în mod constant să se ia cuprinzând mai multe elemente decizionale:

- Momentul
- Destinaţia
- Tipul mijlocului de evacuare
- Mijlocul de transport
- Echipa medicală

MOMENTUL EVACUĂRII ŞI PREGĂTIREA PACIENTULUI PENTRU EVACUARE

Pentru evacuarea primară (1), cea de la locul accidentului spre centrul de traumă indicat, se admite că evacuarea trebuie decisă, negociată, anunţată şi efectuată în minimum de timp posibil, după efectuarea managementului optim prespitalicesc. Este

admisibil ca o serie de gesturi terapeutice să se realizeze şi pe parcursul evacuării, cum ar fi administrarea sângelui, autotransfuzia etc., în timp ce pentru altele, este imperios necesar ca acestea să fie deja efectuate la momentul deciziei de transfer: cale aeriană, asistarea ventilaţiei şi sau anestezie generală (2), drenaje toracice etc. De asemenea nu este admisibilă transferarea unui pacient aflat în stop cardiorespirator (3) pentru această situaţie echipa fiind nevoită să lucreze pe locul accidentului până la resuscitarea pacientului sau pronunţarea decesului. Momentul transferului va fi cel la care următoarele condiţii sunt îndeplinite (2,3)

- echipa de reanimare la dispoziţie
- mijloc optim de transfer, sau confirmare pentru obţinerea unui mijloc de transfer superior calitativ în scurt timp ,,la întâlnire"
- funcţii vitale protezate complet protezate
- controlul hemoragiilor externe
- anestezie generală efectuată
- monitorizare complexă (inclusiv PVC şi capnografie)
- drenaj toracic prealabil chiar pentru revărsatele mici
- plasarea defibrilatorului automat în poziţie de aşteptare
- vena de aşteptare suplimentară
- pantalon antişoc la hipovolemici (5), exceptând contraindicaţiile cunoscute
- imobilizare completă. Pacientul va fi plasat obligatoriu pe o targă vacuum şi nu pe o targă rigidă - care este nu doar mai puţin comodă ci oferă şi condiţii mai slabe de imobilizare şi stabilizare a pelvisului (4). Toate fracturile de membre vor fi stabilizate şi imobilizările vor fi supravegheate permanent pe parcursul evacuării ca şi periferia membrelor imobilizate (3).

DESTINAŢIA

Pacientul politraumatizat este, până la proba contrarie, un pacient critic. În plus, acesta va necesita obligatoriu o strategie de investigaţie standard şi de înaltă tehnicitate, în timp scurt, menită a confirma leziunile şi a direcţiona pacientul spre rezolvarea definitivă a acestora, precum şi de a exclude eventuale leziuni mai puţin evidente clinic, dar cu impact pe prognosticul pacientului. De asemenea, pacientul va necesita o serie de investigaţii pentru stabilirea eventualei patologii asociate preexistente sau a unor situaţii fiziologice particulare (sarcina). Nu în ultimul rând spitalul care primeşte pacientul trebuie să fie în măsură să asigure cel puţin rezolvarea şi asistarea leziunilor cu risc vital imediat şi a funcţiilor vitale. În aceste condiţii obiectivul evacuării medicale primare este de a transfera pacientul către un centru de traumă de nivel corespunzător (5) cu gravitatea leziunilor sale (6,7). În acest sens, echipa medicală trebuie să decidă rapid care este acest centru (cel mai apropiat centru de traumă adecvat) (3), în funcţie de posibilităţile de evacuare pe care le are la dispoziţie sau de care poate dispune într - un interval de timp rezonabil (neriscant pentru pacient) şi să efectueze toate demersurile pentru a comunica acestui centru condiţia pacientului, intervalul probabil de timp pentru ajungerea la spital şi nevoile de management şi investigaţie estimate (8) Admiterea în centrul de traumă de nivel maxim se va decide pentru (2,3):

- toţi accidentaţii, indiferent de aparenta gravitate a leziunilor lor, care provin dintr-un accident din care a rezultat un decedat la locul accidentului
- încarcerarea, mai ales dacă necesită descarcerare prelungită (9)
- înalţimea de la care s-a produs precipitarea peste 6 m sau > 3 ori înălţimea corpului
- blastul (interval liber pentru blastul pulmonar (10) şi ocular)
- pasager ejectat din vehicul (9)
- pentru orice deformare riscantă a habitaclului > 50 cm de partea opusă pacientului şi > 40 cm pe partea pacientului,

sau deformare a vehiculului cu peste 50 cm (9)

- pieton /biciclist lovit de maşină cu viteză >30 km/oră
- pacienţii din maşinile rostogolite
- semne de impact la viteză mare (peste 60 km/oră) (18).
- GCS sub 13, TS sub 14, TA sub 90, RR sub 10 sau peste 29/'

Din pregătirea pentru evacuare trebuie să facă parte obligatoriu (10):

- triajul la evacuare pentru accidentele cu multe victime pentru care nu există pe de o parte posibilitate de transfer simultan optim sau spitalul de destinaţie optim nu are capacitatea de a asista maximal toate victimele simultan, astfel încât trebuie găsite pentru intervale de timp determinate soluţii alternative, corecte, pe trepte de competenţe complementare
- notificarea spitalului din prespital - la orice pacient cu scăderea cu 1 punct a oricărui parametru a RTS sau cu orice 1 leziune cod roşu sau 2 galben.

MIJLOCUL DE EVACUARE

Alegerea acestuia e condiţionată de (11):

- gravitatea cazului
- competenţa echipei
- distanţa până la centrul de traumă
- calitatea drumurilor de acces
- condiţii atmosferice
- calitatea mijloacelor de transport
- rezerva de materiale /echipament
- posibilitatea de a alege

Pentru fiecare dintre posibilităţile de evacuare există contraindicaţii şi profile traumatice optime, pe care echipa trebuie să le cunoască şi să le valorifice în interesul pacientului (12).

a. Evacuarea terestră (1,11,12,13)

- ambulanţe de transport (A1, A2) - neindicate pentru traumă
- ambulanţe de urgenţă - tip B - pot fi folosite ca alternativă în situaţia accidentelor cu multe victime pentru pacienţi stabili, pe distanţe scurte
- ambulanţe de reanimare şi terapie intensivă mobile - C1,C2 - ideale pentru transferul pacienţilor traumatizaţi atunci când nu se indică sau nu este disponibil transferul aerian
- mijloace neclasificate - nerecomandate, cu excepţia situaţiilor de catastrofă sau accidentre cu multe victime când pentru traumatizaţii cod verde se pot admite asemenea evacuări controlate de ofiţerii de evacuare din punctele medicale avansate

Avantaje

- uşor disponibilă
- relativ ieftină
- mai bine cunoscută
- mai puţin dependentă de condiţii meteo
- se pot transporta mai mulţi pacienţi

Dezavantaje

- lentă
- traumatizantă mai ales dacă dumurile de acces sunt de proastă calitate
- acces greu sau imposibil în zone accidentate
- depinde mult de calitatea drumurilor de acces

b. Evacuarea aeriană (1,11,12,14)

- elicopter - transport, reanimare, căutare/salvare montană, marin
- avion sanitar - de joasă sau mare altitudine

Avantaje

- foarte rapidă
- sigură
- atraumatică
- rapid disponibilă în zona montană
- nu depinde de drumuri de acces

Dezavantaje

- scumpă
- echipe medicale şi piloţi antrenaţi
- doar 1 pacient odată pentru elicopterul de reanimare
- depinde mult de vreme / piste, locuri de aterizare/ alimentare

Avionul sanitar (11)

- opţiune pentru transportul de lungă durată
- mai ales pentru evacuarea secundară

- necesită piste de decolare şi aterizare lungi
- oferă o stabilitate bună.
- condiţii bune de lucru
- pacienţii pot fi conştienţi
- presurizare diferită între tipuri
- înălţime de croazieră mare/foarte mare
- poate transporta pacienţi mulţi şi echipe numeroase
- planuri de zbor fixe

Elicopterul sanitar (11,15)

- modern, rapid şi eficient
- acces facil la locul accidentului
- stabilitate bună
- înălţime de zbor mică - nu necesită presurizare
- planuri de zbor rapide şi laxe
- spaţiu / confort de lucru redus, practic managementul trebuie să fie maximal la momentul la care pacientul este urcat în elicopter
- pacientul necesită anestezie generală
- zgomotos / monitorizare vizuală
- nu necesită piste speciale
- posibilă salvarea aeriană

Indicaţii pentru evacuarea aeriană (3):

- de primă intenţie pentru >16 km sau 15' până în centrul de traumă (16)
- salvare montană/marină/ zone izolate
- drumuri de acces nesigure
- ideală pentru

1. hemoragii interne nestăpânite
2. TCC cu procese expansive supraacute
3. gravida politraumatizată
4. arsul mare
5. posibilităţi de replantare
6. posibilitate de donare organe

Ghidurile evacuării aeriene (3):

- timpul de transport terestru al pacientului până la centrul de traumă de nivel 1 sau 2 cel mai apropiat este mai mare decât cel aerian. Elicopterul poate transporta sânge
- descarcerare şi extricare peste 20'
- numărul de pacienţi critici depăşeşte capacitatea de transport a serviciilor terestre
- accesul ambulanţelor, la scenă sau de la scenă, dificil.

ECHIPA MEDICALĂ

Nivelul I al centrului de traumă (11) este ideal pentru managementul complex, definitiv al oricărei traume majore. Pentru aceasta centrul de traumă trebuie să îndeplinească o serie de condiţii:

- disponibil cu toate facilităţile 24/24 ore
- toţi membrii să aibă minim 10 credite CME ATLS anual
- departamentul de urgenţă - parte a echipei de traumă
- permanent chirurgie generală, NCH, ORL, BMF, ginecologică, oftalmochirurgie, pediatrică, plastică, urologie, cardiovasculară cu microscop operator, toracică - gata de lucru la anunţul din prespital
- CT spiral, angiografie, RMN, endoscopie, laparoscopie, echografie - permanent
- by pass cardiopulmonar disponibil
- medic primar de MU, specialist/ rezident şi echipă de asistenţi specializată (ACLS, ATLS, APLS, ANTLS
- Rx şi tehnician disponibil în camera de resuscitare a departamentului de urgenţă
- minim 2 frecvenţe radio de comunicare cu prespitalul
- echipament de încălzire pacient şi perfuzii disponibil în UPU
- laborator complex inclusiv toxicologic şi acces la bănci de date şi de sânge direct din UPU
- protocoale de apel de la domiciliu a întregului staff - maxim 30 min. de la apelul din prespital
- facilităţi de tratament leziuni mielice
- minim 1 medic primar ATI dedicat special pentru urgenţă
- ATI specialist în managementul respiraţiei
- ATI specialişti şi echipă/compartiment arşi
- sisteme avansate de măsurare a funcţiei respiratorii
- 1 asistent la 2 pacienţi în ATI
- sisteme de încălzire pacient
- dializa disponibilă imediat

- monitor PIC şi monitor invaziv hemodinamic avansat etc.
- elicopter propriu şi heliport
- programe de evaluare a calităţii, programe de trainning

CONCLUZII

Evacuarea medicală este parte integrantă a managementului politraumatizatului care poate încununa sau zădărnici eforturile anterioare ale echipei medicale şi poate condiţiona în cel mai înalt grad atât supravieţuirea cât şi reabilitarea pacientului. Aceasta este guvernată de reguli care trebuie să ţină cont atât de starea pacientului şi de mecanismele traumei, cât şi de calitatea şi competenţa ehipajului şi a mijlocului de evacuare aflate la dispoziţie, ca şi de distanţa şi competenţele specifice ale centrului de traumă către care se face evacuarea. În gestionarea tuturor acestor factori şi de asemenea a standardelor temporale optime o bună integrare şi comunicare cu dispeceratul, optim unic şi integrat este capitală..

BIBLIOGRAFIE

1. *** The Royal College of Surgeons of Edinburgh, British Association for Immediate Care, Royal College of Nursing Accident and Emergency Association, National Health Service Aulance Service. *Prehospital Emergency Care. Course Manual.* Basics Education, 1997.
2. Cameron P, Yates D. Trauma. In: Jelinek G, Kelly AM, Murray L, Heyworth J editors. *Textbook of Adult Emergency Medicine.* London: Harcourt Publishers Limited, 2000, 39-102.
3. Holliman J, Arafat R, Boeriu C. *Asistenţa de urgenţă a pacientului traumatizat.* Târgu-Mureş: Casa de Editură Mureş, 2004, 5-153, 169-212, 265-296.
4. Flint L, Babikian G, Anders M et al. Definitive control of hemorrhage from severe pelvic fracture. *Ann Surg* 1990; 221: 703-707.
5. Smith JS, Martin LF, Young WW, Macioce DP. Do trauma centers improve outcome over non-trauma centers: The evaluation of regional trauma care using discharge abstract data and patient management categories. *J Trauma* 1990; 30: 1533.
6. Smith J, Caldwell E, Sugrue M. Difference in trauma team activation criteria between hospitals within the same region. *Emergency Med Australasia* 2005; 17 (5-6): 480-487.
7. Hodgetts T, Deane S, Gunning K. *Trauma rules.* London: BMJ Publishing Group, 1997.
8. Davis MA, Votey SR, Greenough GP. *Signs & Symptoms in Emergency Medicine.* Boston: Mosby, 1999.
9. Palanca S, Taylor D.McD, Bailey M, Cameron PA. Mechanisms of motor vehicle accidents that predict major injury. *Emergency Med* 2003; 15 (5-6): 423-428.
10. Boţianu A, Boţianu P. *ARDS. Sindromul de detresă respiratorie acută.* Târgu-Mureş: Ed. Fundaţiei Chirurgicale ,,Sfântul Ioan'', 2001.
11. Tintinalli JE, Gabor D, Kelen MD, Stapczynski JS. *Emergency Medicine: A Comprehensive Study Guide.* 6th ed. McGraw-Hill Professional, 2003.
12. Schneider C, Gomez M, Lee R. Evaluation of ground ambulance, rotor-wing, and fixed-wing aircraft services. *Crit Care Clin* 1992; 8: 533.
13. *** Ordinul M.S. 270/2004 – Norma metodologică din 19/10/2004 de autorizare a furnizorilor de servicii de asistenţă medicală de urgenţă prespitalicească şi de transport sanitar, elaborate în aplicarea prevederilor Ordinului ministrului sănătăţii nr. 270/2004 privind asistenţa medicală de urgenţă prespitalicească. *Monitorul Oficial*, Partea I nr. 997 din 29/10/2004
14. Ortega AE, Tang E, Froes ET et al. Laparoscopic evaluation of penetrating thoracoabdominal traumatic injuries. Surg Endosc 1996; 10 (1): 19-22.
15. Mahoney P, Haji Michael P. Emergency elicopter system. *Crit Care Clin* 1996; 12: 131-135.
16. Valenzuela TD, Criss EA, Copass MK et al. Critical care air transportation of the severely injured: Does long distance transport adversely affect survival? *Ann Emerg Med* 1990; 19: 169-175.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **ACTUALITĂŢI**

ASPECTE PRIVIND INCIDENŢA ŞI PREVALENŢA FORMELOR DE DEMENŢĂ VASCULARĂ

Maria-Roxana Şova, R.P. Dobrin, V. Chiriţă
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Clinica de Psihiatrie

ASPECTS REGARDING THE INCIDENCE AND PREVALENCE OF VASCULAR DEMENTIA FORMS (Abstract): Vascular dementia is the form of dementia associated with cerebrovascular disease. It involves complex interrelationships between vascular etiologies, pathological changes in the brain, and clinical symptoms. Vascular dementia is associated with vascular and other risk factors, including cognitive ability, age, and education. Vascular dementia is the second most common cause of dementia, having a high rate of causes by itself, or in combination with Alzeimer's disease. Further complicating the diagnosis and treatment of vascular dementia is that it often coexists with Alzeimer's disease in elderly patients. It can be difficult to determine whether vascular abnormality has caused dementia, has contributed to its development, or is simply coincidental. When both vascular and degenerative changes may be contributing to the cognitive decline, term "Mixed" dementia is used. There are many questions still to be answered as to the incidence and prevalence of vascular dementia. Once there is a consensus on what diagnostic criteria should be used and how they should be implemented, or witches are the prevalence and incidence rates for vascular dementia by age, sex, region etc. **Key words**: VASCULAR DEMENTIA, EPIDEMIOLOGY

Conceptul de demenţă, aşa cum este el, astăzi, cunoscut, a evoluat de-a lungul secolelor. Termenul "demenţă" vine de la latinescul "*dementatus*", însemnând în afara minţilor, nebun, atribuit oricărui comportament anormal, neobişnuit de neînţeles sau bizar. Acest concept, care este legat în diverse moduri de bolile bătrâneţii secolului XX, nu avut o semnificaţie prea clară pentru diverse tipuri de populaţie, pacienţi sau medici, în trecut.

De-a lungul secolelor, termenului de demenţă i s-au atribuit diferite semnificaţii, dar în ultimele decenii acesta a suferit o dezvoltare aparte. Demenţa este un termen funcţional, nu un termen patologic. Termenul descrie sindromul clinic, care este determinat de numeroase cauze ce afectează SNC (1).

Demenţa vasculară este o forma de demenţă asociată bolilor cardiovasculare. Aceasta implică o interelaţionare complexă între etiologia vasculară, modificările patologice ale creierului şi simptomele clinice. Demenţa vasculară este influenţată de factori de risc vascular, dar şi de alţi factori, incluzând vârsta şi educaţia. Demenţa vasculară este a doua dintre cele mai comune forme de demenţă, având o rată de incidenţă mare, atât considerată singular, cât şi asociată cu boala Alzheimer. Prevalenţa tuturor formelor de demenţă creşte o dată cu înaintarea în vârstă (2).

Conceptual de demenţă vasculară există din 1896, de când Emil Kraepelin a descris o formă de demenţă pe care a numit-o "arteriosclerotic insanity". Începând de atunci, diagnosticul diferenţial al demenţei vasculare a rămas controversat. Cu toate că definiţiile au suferit transformări, devenind din ce în ce mai extinse odată cu trecerea timpului, continuă să fie dificil să definim natura bolii, să stabilim epidemiologia şi tratamentul necesar (3).

Diagnosticarea demenţei vasculare implică diagnosticarea propriu-zisă a demenţei şi stabilirea etiologiei ei vasculare. Demenţa poate fi definită ca o deteriorare a funcţiilor cognitive, ce determină o afectare a vieţii de zi cu zi. În afară de deteriorarea memoriei, trebuie să se constate şi deteriorarea altor funcţii cognitive. Diagnosticarea demenţei vasculare se poate realiza în cazul în care o afectare cardiovasculară importantă poate fi considerată drept cauză relevantă a deficienţelor cognitive (4).

DIAGNOSTICUL

Diagnosticarea şi tratamentul demenţei vasculare sunt complicate de coexistenţa acesteia cu demenţa Alzheimer, la pacienţii vârstnici. Este dificil să determinăm dacă afecţiunea vasculară a cauzat demenţa, a contribuit la dezvoltarea acesteia, sau este o simplă coincidenţă. Ţinând cont de aceste aspecte, prevalenţa demenţei vasculare care coexistă cu demenţa Alzheimer putem considera că este subdiagnosticată în rândul populaţiei în vârstă (3).

Datorită multiplelor cauze ce o pot determina, demenţa vasculară poate fi privită ca un ansamblu de sindroame. Mecanismul patologic cel mai important este considerat procesul ischemic, care poate fi hipoxic, hipoperfiziv şi/sau prin mecanism ocluziv. Demenţa vasculară poate fi cauzată de oricare din aceste mecanisme sau de asocierea lor, iar rezultatul neuropatologic va fi în acord cu mecanismele dominante. Astfel se explică varietatea simptomatologiei clinice asociate demenţei vasculare şi diferitele grade de dezvoltare a bolii.

Cele mai frecvent întâlnite leziuni cerebrovasculare, asociate cu demenţa, includ infarctele multiple, cortico-subcorticale, infarctele singulare cu localizare strategică, boala vaselor mici, cu infarcte lacunare şi afectarea ischemică a substanţei albe. Studiile neuroimagistice au demonstrat relaţia dintre leziunile de tip infarct şi funcţiile cognitive, asocierea dintre factorii de risc pentru atacurile cerebrale şi funcţiile cognitive. Riscul de apariţie al demenţei este crescut de infarctele cerebrale subclinice (5).

Localizarea leziunilor cerebrale tinde să fie bilaterală şi implică teritoriul marilor vase. În cazul altor pacienţi se evidenţiază zone lacunare, cu localizari multiple, sau în regiuni strategice ale creierului. În contextul demenţei vasculare sunt implicate zone care au rol în memorare şi în cunoaştere : talamusul, substanţa albă frontală, ganglionii bazali, hipocampusul, corpii mamilari. În demenţa Alzheimer apar modificări microscopice, sub forma ghemurilor neurofibrilare, sau a plăcilor de amiloid. Atunci cand se întâlnesc clinic şi paraclinic, atât modificările vasculare, cât şi cele degenerative, se utilizează termenul de demenţă “mixtă”. (6)

Hipertensiunea cronică este asociată cu câteva modificări ce conduc la infarctizare cerebrală şi deficite cognitive. Hipotensiunea determină o întrerupere a fluxului sangvin cerebral normal. O scădere relativă a presiunii sangvine, determinate spre exemplu de un episod hipotensiv, va conduce către o hipoperfuzare cerebrală. Hipertensiunea este asociată cu arterioscleroza, care este mai avansată în cazul demenţei vasculare şi conduce la o strâmtorare a lumenului vaselor până la ocluzie. Afectarea hipoxică a creierului poate fi cauzată de boli pulmonare sau afecţiuni sangvine (spre exemplu policitemia vera).

Termenul de demenţă multiinfarct a fost introdus de Hachinski, în 1974 şi este utilizat pentru a desemna demenţa cauzată de infarctele mari, provocate în special de tromboembolismul apărut ca urmare a leziunilor arteriosclerotice din vasele mari.

Ocluzarea marilor vase poate apare în infarctele mari, care implică cortexul şi substanţa albă. Se identifică o zonă de penumbră în jurul zonei infarctizate, care nu este întotdeauna vizualizată pe CT. Acestă zonă reprezintă o parte importantă din patologia infarctului, în special în zona substanţei albe şi poate implica o zonă mult mai largă decât zona de infarctizare completă. În zona de penumbră importanţa afectării ţesuturilor scade dinspre centru către periferie.

Infarctele ischemice din zonele strategice, incluzând formaţiunea hipocampică, formaţiunile de la baza creierului şi talamusul, pot determina deficienţe cognitive persistente. A crescut numărul dovezilor care atestă rolul pe care îl au bolile cardiovasculare în apariţia simptomelor cognitive din demenţă (6).

Nu este încă bine stabilit rolul substanţei albe în etiologia disfuncţiilor cognitive. Numeroase studii arată asocierea dintre severitatea modificărilor substanţei albe subcorticale şi periventriculare şi funcţiile cognitive, în special testele de determinare a vitezei psihomotorii. Studiile longitudinale recente arată că pacienţii care au modificări ale substanţei albe, vizualizate pe RMN, au şi un risc mai mare pentru demenţă.

Infarctele cerebrale subclince, în asociere cu afectarea cognitivă sunt considerate ca factori de risc pentru atacul cerebral şi pot creşte riscul pentru dezvoltarea demenţei Alzheimer, alături de demenţa vasculară. Relaţia dintre valorile tensiunii arteriale, demenţa Alzheimer şi funcţiile cognitive au fost larg studiate, iar rezultatele arată că între ele nu se poate stabili o funcţie simplă. Este posibil ca afectarea cardiovasculară şi patologia din boala Alzheimer să interacţioneze complex (7).

Boala lui Binswanger este considerată o entitate clinică bine stabilită, care a fost caracterizată pentru prima dată de Alois Alzheimer. Deşi este considerată o afecţiune rară, reprezintă o cauza importantă de demenţă, mai ales la cei în vârstă. Boala lui Binswanger afectează substanţa albă subcorticală. Este caracterizată prin infarcte lacunare, de 5-10 mm diametru, situate mai ales in substanţa albă frontală. În această afecţiune se constată modificari la nivelul substanţei albe profunde şi produse de hipoxia ischemică din variaţiile tensionale. Au fost observate modificări ale vaselor de tipul arteriosclerozei şi lărgirea spaţiilor extravasculare.

Boala lui Binswanger se manifestă clinic prin disfuncţii ale formaţiunilor frontale subcorticale, mişcări de tip parkinsonian, incontinenţă urinară şi paralizie de tip pseudobulbar. Aceste simptome nu apar în totalitate la toţi pacienţii (7).

Majoritatea pacienţilor cu demenţă vasculară se adresează medicului la solicitarea familiei, ca urmare a unor modificări notabile, care pot include pierderi de memorie, modificări ale dispoziţiei, dificultăţi cognitive şi/sau modificări funcţionale. În alte situaţii, pacientul se poate prezenta la medic pentru alte cauze medicale, iar prezenţa demenţei vasculare să fie relevata la CT, sau RMN. Diagnosticarea demenţei vasculare necesită prezenţa demenţei, apoi evidenţierea bolii cerebrovasculare determinate prin examinarea clinică, anamneza pacientului sau imagistica cerebrală.

Este important de identificat corect cauza demenţei pentru administra un tratament cât mai adecvat. Modificările patologice au etiologii variate şi se exprimă prin sindroame clinice distincte. Deteriorarea cognitivă este trăsătura cheie a demenţei vasculare, la majoritatea pacienţilor sunt prezente deteriorarea funcţională globală, scăderea abilităţilor de a desfăşura activităţi zilnice obişnuite şi modificări ale dispoziţiei. Investigarea pacientului trebuie făcută cu atenţie crescută, incluzând o evaluare neuropsihologică completă, evidenţierea pierderilor funţionale, o evaluare psihiatrică, o examinare fizică generală, examinarea neurologică, testele de laborator de rutină, şi orice alte investigaţii mai sunt necesare (8).

Adesea, demenţa vasculară are un debut brusc, iar apoi evoluţia bolii poate fi staţionară, se poate remite, sau poate fi progresivă. Cercetările recente au arătat ca leziunile subcorticale pot determina un debut insidios şi gradat, ireversibil, iar declinul cognitiv este caracteristic demenţei Alzheimer. Alte elemente care diferenţiază demenţa vasculară de demenţa Alzheimer sunt: confuzia nocturnă şi relativa conservare a personalităţii şi a reactivităţii emoţionale, până în stadii avansate ale bolii, alături de prezenţa depresiei, labilitatea emoţională, incontinenţa urinară şi simptomele somatice. Întâlnim depresii mai ales în demenţa vasculară, decât în demenţa Alzheimer. În ambele cazuri, severitatea tulburărilor de comportament se accentuează odată cu declinul cognitiv. Demenţa vasculară poate fi diagnosticată prin existenţa istoricului factorilor de risc, pentru bolile cardiovasculare şi prezenţa semnelor neurologice de focar. Simptomatologia ne poate orienta în stabilirea diagnosticului diferenţial (5).

DIAGNOSTICUL DIFERENŢIAL

Deşi diagnosticul diferenţial poate stabili o ordine a probabilităţilor, nu poate stabili cauza specifică; fiecare pacient este unic, iar diagnosticul trebuie pus în contextul istoricului personal.

Cel mai controversat aspect al diagnosticului diferenţial al demenţei vasculare este reprezentat de demenţa "mixtă". Acest termen este folosit pentru a descrie demenţa care întruneşte caracterisicile demenţei vasculare şi Alzheimer. Multe din persoanele cu demenţă vasculară au patologie de demenţă vasculară şi infarctizare cerebrovasculară. Prezenţa bolilor cardiovasculare joacă un rol foarte important în accentuarea severităţii simptomelor clinice ale demenţei Alzheimer. La pacienţii la care predomină patologia demenţei Alzheimer expresia clinică este accentuată de leziunile vasculare. Se estimează ca 15-20% din cazurile de demenţă sunt reprezentate de demenţele mixte. În mod clar este vorba de un grup important de pacienţi. Tabloul clinic arată că în aceste cazuri este vorba de o continuitate a patologiei, iar demenţa Alzheimer pură şi demenţa vasculară pură sunt cele două extreme (5).

Rata de diagnosticare a demenţei vasculare a crescut ca urmare a îmbunătăţirii imagisticii şi a facilitării accesului pacienţilor la aceste tehnici, a informării publicului prin mijloace media. Creşterea numărului populaţiei vârstnice, ca urmare a îmbunătăţirii calităţii vieţii, a determinat îndreptarea atenţiei către acest segment. În ceea ce priveşte prevalenţa cu vârsta, prevalenţa demenţei vasculare este mai mare decât cea din demenţa Alzheimer. Incidenţa cu vârsta a demenţei vasculare este de asemenea mai crescută, comparativ cu demenţa Alzheimer. În general, prevalenţa demenţei Alzheimer este prezentată ca fiind mai crescută la femei decât la bărbaţi, în special după vârsta de 80 ani, în timp ce demenţa vasculară este mai frecventă la bărbaţi, în special înainte de 75 ani. Ţinând cont de costurile financiare şi nonfinaciare pentru societate este important de determinat cu acurateţe incidenţa (proporţia persoanelor care au afecţinea în unitatea de timp, de exemplu într-un an) şi prevalenţa (proporţia de persoane care dezvoltă afecţiunea în timp) într-o populaţie dată. Sub acest aspect, demenţa vasculară tipică include cazurile de demenţă care apar după atacuri cerebrale care pot fi considerate că determină afectare cognitivă. Acestea sunt cazuri probabile şi posibile de demenţă vasculară şi demenţă mixtă (9).

Sunt similitudini între mecanismele fiziopatologice, factorii de risc asociaţi şi deficitele neurochimice, atât în demenţa vasculară, cât şi în demenţa Alzheimer. Este dificil de expus în ordine factorii care contribuie la apariţia demenţei (spre exemplu demenţa Alzheimer sau demenţa vasculară ori demenţa Alzheimer cu afectare cardiovasculară. Este evident că prevalenţa demenţei Alzheimer, asociată cu bolile cardiovasculare este subestimată (5).

În demenţa vasculară, ca urmare a etiologiei asociată cu factorii de risc vascular, există o mare varietate de simptome clinice. Eterogenitatea bolii se evidenţiază în dificultatea clinică şi neuropatologică de stabilire a diagnosticului, în dificultatea clasificării şi monitorizării demenţei vasculare. Ca urmare, este dificil de stabilit un tablou clar al incidenţei şi prevalenţei în demenţa vasculară. În cele mai multe studii incidenţa bolii creşte marcat cu vârsta. Din acest motiv, rata incidenţei depinde foarte mult de structura vârstei populaţiei. Ţările care au un număr mare de populaţie în vârstă au şi o rată mai mare a incidenţei, decât ţările în care speranţa de viaţă este mai scăzută (5).

PREVALENŢA ŞI INCIDENŢA

Prevalenţa este strâns legată de incidenţă, iar mortalitatea de condiţiile de viaţă. Rata prevalenţei demenţei vasculare diferă în diverse studii, pe de o parte, datorită metodologiilor diferite şi, pe de alta, probabil, datorită datelor genetice şi factorilor de mediu diferiţi de la ţară, la ţară. Studiile arată o creştere a prevalenţei cu vârsta, aceasta dublându-se la fiecare 5,3 ani (10).

Se poate discuta mult pe marginea prevalenţei şi incidenţei în diferitele regiuni ale globului, în ciuda scăderii incidenţei atacurilor cerebrale şi a unui tratament mai bun al hipertensiunii arteriale în Europa, evidenţele disponibile nu arată nici un declin în prevalenţa demenţei vasculare (7).

Există multe întrebări care aşteaptă un răspuns cu privire la incidenţa şi prevalenţa demenţei vasculare. Una dintre ele se referă la consensul în privinţa criteriilor de diagnosticare şi cum să fie acestea implementate, pentru a se determina ratele de incidenţă şi prevalenţă ale demenţei vasculare, pe categorii de vârstă, sex, regiuni etc.

Persoanele cu demenţă vasculară au un risc mai mare de îmbolnăviri şi de mortalitate în comparaţie cu cele fără demenţă sau cu demenţă Alzheimer. Unele persoane cu demenţă vasculară prezintă semne de boală vasculară avansată, cu hipertensiune, diabet, angină pectorală şi claudicaţii intermitente, cu complicaţii. Pacienţii fac boli cronice debilitante, cu mulţi ani înainte de a fi diagnosticaţi cu demenţă vasculară. Persoanele cu demenţă vasculară au un risc mai mare de instituţionalizare, dispoziţia şi personalitatea pot suferi modificări severe în demenţa vasculară şi apar de timpuriu în evoluţia bolii. Dizabilităţile fizice rezultate în urma bolilor cardiovasculare pot fi severe în cursul bolii. Aceasta împovărează şi mai mult persoanele de îngrijire şi explică marele risc de instituţionalizare (5,7).

Faptul că bolile cardiovasculare se întâlnesc frecvent la populaţia vârstnică fără demenţă modifică ideea conform căreia este o legătură strictă între demenţă şi bolile cardiovasculare. Este important de precizat circumstanţele în care bolile cardiovasculare pot determina demenţa (11).

FACTORII DE RISC

Factorii de risc pentru demenţa vasculară nu sunt la fel de clar delimitaţi ca cei pentru bolile cardiovasculare şi în prezent factorii de risc pentru demenţa vasculară au fost extrapolaţi de literatură dinspre bolile cardiovasculare. Atacul cerebral este factorul de risc major pentru demenţa vasculară, iar factorii de risc pentru atacul cerebral cresc riscul pentru demenţa vasculară. Factorii de risc pentru demenţa vasculară pot fi clasificaţi în nereversibili şi reversibili. Vârsta, predispoziţia genetică, nivelul educaţional şi un istoric apropiat de un atac cerebral, sunt toţi factori de risc nereversibili. Factorii de risc cum ar fi hipertensiunea, fumatul, şi boala arterială coronariană, sunt consideraţi reversibili. Intervenţia medicamentoasă şi modificările stilului de viaţă pot ameliora aceste riscuri, încetinind progresia bolilor cardiovasculare.

Factorii de risc şi mecanismele bolii sunt complexe şi se suprapun. Deoarece tratamentul nu poate reface modificările produse deja în cursul bolii, modificarea factorilor de risc, incluzând stilul de viaţă, este esenţial. Trebuie recomandate controlarea valorilor mari tesionale, a hipercolesterolemiei, a bolilor de inimă şi a diabetului. O dietă sănătoasă, activitatea fizică, întreruperea fumatului pot scădea riscul de atac cerebral şi al bolilor cardiovasculare. Acţionarea asupra cauzelor primare ale demenţei vasculare rămâne regula de aur în tratarea acesteia (6).

BIBLIOGRAFIE

1. Hofman A, Rocca WA, Brayne C et al. The prevalence of dementia in Europe, a collaborative study of 1980- 1990 findings. *Int J Epidemiol* 1991 ; 20 : 736-748.
2. Breteler MMB, Claust JJ, Grobee DE, Hofman A. Cardiovascular disease end distribution of cognitive function in elderly people : the Rotterdam study. *Br Med J* 1994 ; 308 : 1604-1608.
3. Skoog I. Status of risk factors for vascular dementia. *Neuroepidemiol* 1998 ; 17 : 2-9.
4. Desmond DW. Vascular dementia : a construct in evolution. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1996 ; 8 : 296-325.
5. Tatemichi TK, Paik M, Bagiella E. Risk of dementia after stroce in a hospitalized chort : results of a longitudinal study. *Neurol* 1994 ; 44 : 1885-1891.
6. Mirsen T, Hachinski V. Epidemiology and classification of vascular and multi-infarct dementia. In : Meyer JS, Lechner H, Marshall J, Toole JF editors. *Vascular and Multiinfarct Dementia :* New York : Future Publishing, 1988.
7. Roman GC. Senile dementia of the Binswanger type. A vascular form of dementia in the elderly. *JAMA* 1987 ; 258 : 1782-1788.
8. Brun A. Pathology and pathophysiology of cerebrovascular dementia : pure subgroubs of obstructive and hypoperfusive etiology. *Dementia* 1994 ; 5 : 145-147.
9. Wallin A, Blennow K. The clinical diagnosis of vascular dementia. *Dementia* 1994 ; 5 : 181-184.
10. Jorm AF, Korten AE, Henderson AS. The prevalence of dementia : a quantitative integration of the literature. *Acta Psychiatr Scand* 1987 ; 76 : 465-479.
11. Skoog I. Risk factors for vascular dementia : a review. *Dementia* 1994 ; 5 : 137-144.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **ARTICOLE ORIGINALE**

DETECTAREA MICOTOXINELOR HEPATOTOXICE LA PACIENŢI CU CIROZĂ HEPATICĂ

C. Huţanaşu[1], C. Sfarti[1], Anca Trifan[1], Camelia Cojocariu[1], A. Şpac[2], M. Apostu[3], L. Miron[4], V. Dorneanu[3], C Stanciu[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Institutul de Gastroenterologie şi Hepatologie Iaşi
1. Disciplina de Semiologie Medicală
Facultatea de Farmacie
2. Disciplina de Chimie Fizică
3. Disciplina de Chimie Analitică
Universitatea de Ştiinţe Agronomice şi Medicină Veterinară "Ion Ionescu de la Brad" Iaşi
Facultatea de Medicină Veterinară
4. Disciplina de Parazitologie şi Boli parazitare şi Biologie animală

HIGH BLOOD AND URINE CONCENTRATION OF HEPATOTOXIC MYCOTOXINS (AFLATOXIN B1, STERIGMATOCYSTIN) IN PATIENTS WITH LIVER CIRRHOSIS (Abstract) : Aflatoxins and sterigmatocystin are potent carcinogens, certainly involved in pathogenesis of liver cancer. **Aim** : To evaluate the risk of mycotoxin intake and to determine the presence of aflatoxin B1 (AFB1) and sterigmatocystin (STC) in patients with liver cirrhosis. **Material and method** : The study included 92 patients (33 controls, 59 liver cirrhosis) that completed a food frequency questionnaire (FFQ). Blood and urine samples were collected and mycotoxins determined by high performance liquid chromatography. **Results** : 18.18% samples in controls and 72.88% in cirrhosis group presented detectable levels of mycotoxins. The mean values of AFB1 in blood were 0.7 ng/mL in controls and 1.67 ng/mL in test group ($p=0.11$) ; STC presented 60 times higher levels in second group ($p<0.01$). AFB1 presented a mean level of 1.2 ng/mL in urine of test group (not detected in controls) ; STC presented 256 time higher concentration in urine of cirrhotic patients, with a perfect correlation between blood and urine levels in control ($r=1$) and no correlation in test group ($r=0.05$). There were no correlations between mycotoxin, liver enzymes, α-fetoprotein and mycotoxin intake risk estimated by FFQ. **Conclusion** : Most of the patients presented detectable levels of mycotoxins, significantly increased in cases with liver cirrhosis, probable due to a specific metabolic pattern. **Key words** : AFLATOXIN B1, STERIGMATOCYSTIN, LIVER CIRRHOSIS, HPLC

Micotoxinele sunt produşi toxici de metabolism ai fungilor, a căror prezenţă în alimentele de larg consum nu poate fi prevenită (1,2). Dintre micotoxine se remarcă aflatoxina B1 (AFB1), substanţa cu cel mai puternic efect carcinogen hepatic (carcinogen de ordinul I), considerată agent etiologic principal al carcinomului hepatocelular (CHC) în unele zone din Africa şi Asia (2,3). Sterigmatocistina (STC) este un precursor al AFB1, conversia între cele două forme fiind independentă de prezenţa unui sistem enzimatic (4). Având în vedere faptul că o proporţie însemnată dintre CH (circa 10%) nu au o etiologie clară (5), precum şi faptul că micotoxinele pot induce leziuni hepatice severe (2,6), este utilă investigarea legăturii dintre intoxicaţia cronică cu micotoxine şi procesul de generare a CH, la ora actuală neexistând date care să evalueze impactul acestora asupra evoluţiei hepatopatiilor cronice.

SCOP

Studiul a urmărit evaluarea riscului de ingestie a micotoxinelor de către pacienţii internaţi, determinarea prezenţei acestora în produse biologice recoltate de la cazurile cu afectare hepatică avansată şi stabilirea rolului lor în producerea acestei afectări.

MATERIAL ŞI METODĂ

În studiu au intrat 92 pacienţi, divizaţi în două loturi: 33 de pacienţi fără afectare hepatică cronică semnificativă (vârsta medie - 57,83 ani); 59 de pacienţi, diagnosticaţi cu CH (vârsta medie - 57,24 ani). Toţi pacienţii au declarat obiceiuri alimentare constante în ultimul an şi au semnat un consimţământ de participare. De la toţi pacienţii au fost recoltate 20 mL de sânge periferic pe EDTA şi 50 mL de urină. Folosind metoda chimiei umede (Hitachi), au fost determinate enzimele de citoliză hepatică (TGP, TGO) şi de colestază (FA, GGT), precum şi á-fetoproteina serică (AFP) prin electrochemiluminiscenţă (Modular E 170).

Cromatografia de lichide de înaltă performanţă (HPLC). S-a folosit un cromatograf de lichide tip HP 1090 cu detecţie simultană în UV la 251 nm şi în fluorescenţă (excitaţie la 228 nm şi emisie la 423 nm) prevăzut cu o coloană C18 tip Zorbax (15 cm x 4,5 mm, 5 μm), cu o fază mobilă formată din amestec acetonitril : metanol : apă (99 : 99 : 2) la un debit de 0,7 mL/min, conform metodei descrise anterior (11), după precipitarea proteinelor din sânge cu acetonitril, purificare cu izooctan, extracţie cu cloroform şi reluarea reziduului obţinut, după evaporarea la sec, cu metanol. Folosind ecuaţia curbei de calibrare obţinută la studiul liniarităţii din cadrul validării metodei de analiză, utilizând amestecuri de AFB1 şi STC în concentraţii cunoscute, s-a calculat concentraţia în micotoxine din probele de sânge recoltate de la pacienţi. Precizia metodei (RSD) este de 16,9629% cu o regăsire medie de 99,2%.

Chestionarul de frecvenţă alimentară (CFA). Chestionarul a fost alcătuit din 23 de întrebări de tip complement simplu, cu 6 variante de răspuns şi a evaluat obiceiurile alimentare de bază, gradul de ingestie a alimentelor considerate cu risc maxim de contaminare directă cu micotoxine (fructe oleaginoase, cafea, porumb, condimente), şi al alimentelor de bază (lactate, carne, ouă) - cu risc de contaminare indirectă, prin consumul hranei afectate de către animale. S-a alcătuit ulterior un scor de evaluare a riscului, comparat cu datele obţinute la analiza probelor biologice.

Analiza statistică a datelor. Datele obţinute au fost introduse într-o bază de date în SPSS v. 1.3, program cu care s-au efectuat testele statistice.

REZULTATE

Nu s-a reuşit stabilirea unor profiluri distincte de risc pentru ingestia de micotoxine prin metoda chestionarului de frecvenţă alimentară. Toţi participanţii la studiu au dat răspunsuri similare, fără a se putea atribui pacienţilor cu CH un regim alimentar diferit faţă de martor. Din totalul de 184 probe analizate, 61 (33,15%) au prezentat nivele detectabile de micotoxine: 47,45% în lotul cu CH şi 7,57% în lotul martor (tab. I). Cel mai frecvent a fost detectată STC (23 probe de urină, 17 de sânge).

La lotul martor, concentraţia medie a AFB1 a fost de 0,7 ng/mL în sânge, aceasta nefiind detectată în urină. Nivelele medii de STC au fost de 0,0115 ng/mL în sânge şi 0,0041 ng/mL în urină. În lotul cu CH, AFB1 a avut o concentraţie medie de 1,68 ng/mL în sânge şi 1,20 ng/mL în urină, iar nivelul mediu de STC fost de 0,63 ng/mL şi respectiv 1,05 ng/mL. Se constată diferenţe semnificative statistic între nivelele medii ale micotoxinelor urinare la cele două loturi, precum şi între concentraţiile medii ale STC plasmatice (tab. II). La lotul martor, nu s-a putut stabili o corelaţie între valorile AFB1 în sânge şi urină, datorită absenţei acesteia în urină. Se remarcă însă corelaţia pozitivă perfectă între variaţiile STC în cele două produse biologice testate (r=1). La lotul cu CH, nu se poate stabili o corelaţie semnificativă între nivelele de micotoxine detectate în sânge şi urină (r<0,3).

TABELUL I

Repartiţia probelor depistate pozitiv

Micotoxina dozată	Martor		CH		Total
	Sânge	Urină	Sânge	Urină	
AFB1	3	0	6	12	**21**
STC	1	1	22	16	**40**
Total	**4**	**1**	**28**	**28**	**61**

TABELUL II

Corelaţia dintre nivelul micotoxinelor (ng/mL) determinate în sânge şi urină la cele două loturi

Micotoxina	Produs biologic	Martor	CH	p
AFB1	Sânge	0,70	1,68	0.11
	Urină	0	1,20	0,003
	r*	-**	-0,09	
STC	Sânge	0,01	0,63	0,003
	Urină	0,004	1,05	0,06
	r*	1	0,05	

*coeficientul de corelaţie (testul Pearson); **nedeterminabil datorită absenţei probelor pozitive la martor

TABELUL III

Analiza statistică a variaţiilor parametrilor hepatici în raport cu nivelul de micotoxine la cele două loturi

	Martor				CH				p^d
	AFB1s	**AFB1u**	**STCs**	**STCu**	**AFB1s**	**AFB1u**	**STCs**	**STCu**	
AFP	-0,003	-0,10	-*	-*	-0,16	-0,16	-0,05	-0,03	0,09
TGO	-0,12	-*	-0,07	-0,07	-0,20	-0,07	0,18	*0,38*	*0,003*
TGP	-0,12	-*	-0,07	-0,07	-0,16	-0,07	0,28	0,16	0,43
FA	-0,17	-*	-0,16	-0,16	-0,07	-0,11	-0,10	-0,10	*0,004*
GGT	-0,12	-*	-0,02	0,02	-0,10	-0,00	0,03	-0,07	0,17
Medie$^+$	0,702	0	0,011	0,004	1,677	1,201	0,626	1,053	

* nu s-a putut calcula corelaţia datorită nivelului mic/absent de micotoxină; $^+$ concentraţia de micotoxină exprimată în ng/mL; ^{d} comparaţie statistică între cele două loturi (t-Test)

La o valoare considerată normală a laboratorului de 7 ng/mL, în lotul martor s-a înregistrat un nivel mediu al AFP de 4,74 ng/mL şi de 14,89 ng/mL la pacienţii cu CH. Gradul mare de dispersie a valorilor în lotul cu CH face însă ca diferenţa să nu atingă pragul de semnificaţie statistică (p=0,09). Nivelul mediu al TGP a fost de 65,43 UI/L în lotul martor şi de 69,13 UI/L în lotul cu CH (p=0,43), în timp ce pentru TGO s-au înregistrat valori medii de 44,93 UI/L şi respectiv 87,97 UI/L (p=0,003). GGT şi FA au avut valori medii de 166,73 UI/L la martor şi 146,19 la lotul cu CH (p=0,17), respectiv 56,83 UI/L şi 159,42 UI/L pentru FA (p=0,004).

S-a efectuat testul Pearson pentru determinarea corelaţiei variaţiilor concentraţiei de micotoxine cu cele ale AFP şi enzimelor hepatice (tab. III). Deşi la pacienţii cu CH atât valorile micotoxinelor, cât şi cele ale AFP şi enzimelor hepatice sunt mult mai ridicate, nu s-a putut stabili o corelaţie directă între parametrii menţionaţi, coeficientul de corelaţie având valori apropiate de 0. Excepţie face relaţia dintre TGO şi STC urinară, unde s-a înregistrat o slabă corelaţie pozitivă (r=0,38).

DISCUŢII

Numeroase studii au pus în evidenţă metaboliţi ai micotoxinelor în urina pacienţilor, mai ales în zonele cu risc major de contaminare a alimentelor sau cu incidenţă crescută a hepatocarcinomului. Determinarea formelor parentale ale micotoxinelor a fost folosită ca marker de intoxicaţie acută, acestea având un timp de înjumătăţire de aproximativ 48 de ore (2,7). Metodele tradiţionale de evaluare a intoxicaţiei cu aflatoxine sunt reprezentate de determinarea produşilor de metabolism în urină - pentru intoxicaţia acută (7,8) şi a adducţilor AFB1-albumină în plasmă sau compuşilor AFB1-N^7-guanină în urină - pentru intoxicaţia cronică (2,8,12). Prin determinarea formelor parentale prin metode de o mare sensibilitate, studiul nostru a urmărit punerea în evidenţă şi cuantificarea nivelului „cronic" de expunere al pacienţilor, date care la ora actuală nu sunt disponibile în ţara noastră şi sunt foarte puţin reprezentate în literatura de specialitate. Prin chestionarul alimentar, s-a încercat determinarea indirectă a gradului de intoxicaţie cronică prin ingestia de alimente cu risc major de contaminare cu micotoxine, fără a se pune însă în evidenţă un risc crescut la pacienţii cu CH. În afara gradului inerent de imprecizie a metodei (10), motivaţiile ar putea fi reprezentate de loturile mici de pacienţi care nu au permis o analiză statistică de amploare sau de completarea retrospectivă a chestionarelor, cuprinzând modificările induse în stilul de alimentaţie de diagnosticul de CH, fapt care poate limita acurateţea datelor introduse. Pe de altă parte, este posibil ca principiile alimentare cu risc de contaminare consumate de pacienţi să fie similare cantitativ, dar gradul de contaminare, determinat de modul de producţie, ambalare şi conservare, să difere semnificativ.

Pentru prima dată în ţară s-a reuşit demonstrarea clară a aportului constant de micotoxine, prin detectarea acestora în probe biologice recoltate de la om. Probele pozitive la lotul fără afectare hepatică arată expunerea generală, rezultatele nefiind influenţate de condiţii patologice asociate. Atfel, sunt mult mai semnificative nivelele crescute de toxine depistate la pacienţii cirotici. Chiar în condiţiile în care etiologia principală a CH a fost reprezentată de virusuri şi etanol, nivelele crescute de micotoxine demonstrează acţiunea continuă a unui factor suplimentar de risc la pacientul cirotic. Lipsa corelaţiei dintre testele funcţionale hepatice şi nivelul AFP (ca marker de regenerare hepatică) cu nivelele de micotoxine la pacienţii cirotici, precum şi absenţa unor date care să indice un nivel crescut de ingestie a acestora la aceşti pacienţi duc la concluzia că intoxicaţia cronică cu micotoxine nu este un factor determinant al procesului cirogenetic, fiind dificil de estimat dacă nivele crescute de forme parentale depistate în lotul cu CH reprezintă cauza sau mai degrabă consecinţa acesteia. Când micotoxina a fost prezentă atât în sângele cât şi în urina lotului martor, cum este cazul STC, a existat o concordanţă perfectă între cele două seturi de valori (r=1), sugerând o relaţie puternică între aportul şi eliminarea toxinei la persoanele cu funcţie hepatică normală. Lipsa concordanţei între valorile depistate în sângele şi în urina pacienţilor cirotici indică o particularitate de metabolizare a toxinei în acest caz. Fenomenul poate fi explicat printr-un deficit de absorbţie la nivel intestinal (congestia mucoasei în contextul hipertensiunii portale) sau prin scăderea ratei de metabolizare hepatică a toxinei (în contextul insuficienţei hepatocelulare), care determină o eliminare crescută a formei parentale. Prezenţa unei cantităţi apreciabile de AFB1 în urina pacienţilor cu CH sugerează acelaşi lucru, mai ales în contextul absenţei totale a acesteia la lotul martor, unde probabil a fost metabolizată hepatic.

CONCLUZII

Pentru prima dată în ţară este pusă în evidenţă ingestia constantă de micotoxine hepatotoxice şi caracterul cronic al intoxicaţiei. Concentraţia de micotoxine este semnificativ mai crescută la pacienţii cirotici, ca urmare a unei particularităţi de metabolizare a micotoxinelor, nefiind demonstrat un nivel crescut de ingestie faţă de lotul fără ciroză hepatică.

BIBLIOGRAFIE

1. Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev* 2003 ; 21 ; 497-516.
2. Eaton DL, Groopman JD. *The Toxicology of Aflatoxins : Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance.* San Diego : Academic Press, 1994.
3. DeVries HR, Lamplugh SM. Aflatoxins in liver biopsies from Kenya. *Trop Geogr Med* 1989 ; 41 : 26-30.
4. Singh R, Hsieh DP. Enzimatic conversion of sterigmatocystin in to aflatoxin B1 by cell-free extracts of *Aspergillus parasiticus*. *Appl Environ Microbiol* 1976 ; 31 (5) : 743-745.
5. Pascu O. Cirozele hepatice. In : Grigorescu M editor. *Tratat de Hepatologie*. Bucureşti : Ed. Medicală Naţională, 2004.
6. Tandon BN, Krishnamurty L, Tandon HD, Ramaligswami V, Bhandari JR, Mathur MM et al. Study of an epidemic jaundice, presumably due to toxic hepatitis in Northwest India. *Gastroenterol* 1977 ; 72 : 488-494.
7. Mykkanen H, Zhu H, Salminen E et al. Fecal and urinary excretion of aflatoxin B1 metabolites (AFQ1, AFM1 and AFB-N^7-guanine) in young Chinese males. *Internat J Cancer* 2005 ; 115 (6) : 879-884.
8. Said HB, Awad A, Mostafa M, Shank R. Novel adenine adducts, N^7-guanine-AFB1 adducts and p53 mutation in patients with schistosomiasis and aflatoxin exposure. *Cancer Detection and Prevention* 2006 ; 30 (6) : 491-498.
9. Van Rensburg SJ, Cook-Mazaffari P, van Schalkwyk DJ, van der Watt JJ, Vincent TJ. Purchase IF. Hepatocellular carcinoma and dietary aflatoxin in Mozambique and Transkei. *Br J Cancer* 1985 ; 51 : 713-720.
10. Ritenbaugh C, Aickin M, Taren D et al. Use of food frequency questionnaire to screen for dietary eligibility in a randomized cancer prevention phase III trial. *Cancer Epidemiol Biomarker Prev* 1997 ; 6 (5) : 347-354.
11. Mandravel C, Stănescu-Dumitru R. *Metode fizico-chimice aplicate la măsurarea noxelor în mediul profesional.* Bucureşti : Ed. Academiei, 2003.
12. Chen SY, Chen CJ, Tsai WY et al. Associations of plasma aflatoxin B1-albumin adduct level with plasma selenium level and genetic polymorphisms of glutathione S-transferase M1 and T1. *Nutr Cancer* 2000 ; 38 : 179-185.
13. Bulea D, Şpac A, Dorneanu V. Determinarea Ochratoxinei A din cafea boabe prin metoda HPLC. *Fungi & Mycotoxins* 2008 ; 2 (1) : 157-163.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

DIAGNOSTICUL INSULINOREZISTENŢEI ŞI VALOAREA SA PREDICTIVĂ ASUPRA BOLILOR CARDIOVASCULARE ŞI A DIABETULUI

Celina Stafie
Universitatea de Medicina "Gr.T. Popa"Iasi
Facultatea de Medicină
Disciplina de Medicină de Familie

INSULIN-RESISTANCE DIAGNOSIS AND ITS PREDICTIVE VALUE ON CARDIOVASCULAR DISEASES AND DIABETES (Abstract): The problem importance is that insulin-resistance, a bridge between diabetes and heart diseases could prevent if diagnosticated, ahuge amount of cardiovascular morbidities. **Material and method**: Ambulatory trakcing of fat patients; maximum waist more or equal than 88/102 cm, distinguishing the central fatness form and including those cases in the study; diagnosis criterias for the insulin-resistant patients, comparing to traditional, cardio-vascular risk factors (cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol, LDL cholesterol, smoking, stress, sedentary life). **Results**: The higher corelation with insulin resistance is due to high level of trygliцerides (82.8%) and hygh blood pressure values(48.4%). **Conclusions**: If in the case of association between insulin-resistance and abdominal fatness, the cardio-vascular risk (the number of cardio-vascular events), increases in time more, comparing to the fat patients who didn't had insulin-resistance at the beginning of the study. If, in the case of association between insulin-resistance and diabetes and fatness, the cardio-vascular risk is increased comparing to insulin-resistant fat patients, but without diabetes (case-control inquiry). **Key words**: INSULIN-RESISTANCE, FATNESS POPULATION, CARDIOVASCULAR RISK, EPIDEMIOLOGICAL ASSOCIATION FORCE

Insulinorezistenţa reprezintă agregarea de factori de risc metabolici şi celulari ce conduc în termen scurt, invariabil, către boli cardiovasculare sau diabet.

MATERIAL ŞI METODĂ

Au fost investigaţi în perioada 1998 octombrie - decembrie 2007 un număr de 1120 pacienţi ce s-au prezentat pentru consult de specialitate în cabinetul de medicină internă al Ambulatoriului de specialitate al Spitalului „Sf. Spiridon" Iaşi.

Pacienţii s-au prezentat pentru diferite afecţiuni şi au constituit colectivitatea de bază, pentru lotul A. Dintre ei au fost diagnosticaţi cu obezitate, în funcţie de indicele de masă corporală (IMC) un număr de 483 pacienţi.

După calcularea indicelui abdomino-fesier (IAF) şi măsurarea taliei, pentru valori ale taliei situate peste 88 cm la femei şi 102 cm la bărbaţi, s-a diagnosticat obezitatea abdominală la un număr de 274 pacienţi ce s-au constituit în lotul A.Tuturor pacienţilor obezi le-au fost evaluaţi factorii de risc incluşi în schema de diagnostic a insulinorezistenţei NCEP ATP III, care necesită minim trei din cinci factori de risc pentru a diagnostica insulinorezistenţii.S-au folosit determinări biochimice a jeun şi provocate, antropometrie, explorări funcţionale.Nu a existat posibilitatea determinărilor HOMA-R pentru lotul de obezi.

Diagnosticul de insulinorezistenţă a subdivizat lotul A în alte două loturi, A1 format din 186 pacienţi cu obezi cu insulinorezistenţă şi A2 format din 88 pacienţi obezi, conform design-ului lotului A. Studiul a efectuat anchete epidemiologice prospective, pe boli cardiovasculare(cardiopatie ischemică cronică, accident vascular cerebral, infarct miocardic, hipertensiune arterială esenţială) şi diabet.

1. aria investigată: obezitatea abdominală
2. populaţia ţintă: toşi pacienţii obezi ce s-au prezentat către consult medical din 1999- 2003.
3. anchetă retrospectivă pe factorii de risc ai insulinorezistenţei, dar şi anchetă pe comportament alimentar şi stil de viaţă

Structura lotului de obezi A1

Eşantionul are ca structură pe sexe şi vârste un număr de subiecţi de sex feminin mai mare, o vârstă medie la femei (52,2 ani) semnificativ statistic mai mare, la un prag de semnificaţie sub 0,0027.

Din prezentarea lotului A_1, evidenţiem următoarele concluzii preliminare ale capitolului de prezentare a structurii lotului:

- frecvenţa obezităţii = 67,1%
- volumul eşantionului = 20, 6% din totalul cazurilor de obezitate
- vârsta medie = 50,5 ani, mai mică la bărbaţi
- 7 / 10 sunt din mediul urban
- Durata de supraveghere = 3,66 ani, mai mică la bărbaţi.

Structura lotului de obezi A2

Eşantionul are următoarea structură pe sexe şi vârste: un număr mai mare de subiecţi de sex feminin, cu o vârstă medie de 42,2 ani nesemnificativă statistic, explicată prin vârsta medie între cele două sexe aproximativ egală - pacienţi tineri.Toţi pacienţii provin din mediul urban.

Criterii de diagnostic al insulinorezistenţei

Diagnosticul de insulinorezistenţă s-a pus pe baza unei fişe de inventariere a insulinorezistenţei, preluată după fişa utilizată de EGIR în studiile pe cohorte de pacienţi obezi.

TABELUL I
Definiţia NCEP ATP III: 3 sau mai multe din următoarele criterii

Factori de risc	Nivel definitor
Obezitate abdominală (Circumferinţa taliei)	> 102 cm, bărbaţi > 88 cm, femei
Trigliceride	≥ 150 mg/dL
Colesterol- HDL	< 40 mg/dL, bărbaţi < 50 mg/dL, femei
Tensiune arterială	≥ 130 / 85 mmHg
Glicemie à jeun	> 110 mg/dL

Lotul A, format din 483 pacienţi obezi, a fost supus astfel schemei de diagnostic de insulinorezistenţă, rezultând un număr de 186 pacienţi insulinorezistenţi conform criterii lor prezentate în tabelul I.

Pe lotul A s-au desfăşurat ulterior în scopul verificării ipotezelor de studiu, următoarele anchete epidemiologice:

- o anchetă transversală, de prevalenţă, în scopul cunoaşterii frecvenţei obezităţii şi insulinorezistenţei în lotul A;
- o anchetă retrospectivă de inventariere a factorilor de risc ai bolilor cardiovasculare şi diabetului;
- o anchetă epidemiologică, combinând cele două tipuri de curente (retro şi prospectivă) în scopul stabilirii de corelaţii epidemiologice şi clinice între factorii de risc prezenţi în lot şi factorii de risc şi bolile survenite pe parcursul studiului A.

Studiul A s-a desfăşurat în baza următoarelor etape:

- examinarea medicală la cabinet a pacienţilor prezentaţi spontan;
- stabilirea diagnosticului de obezitate, includerea în studiu a subiecţilor obezi;
- stabilirea tipului de obezitate, cu separarea pacienţilor cu diagnostic de obezitate abdominală, din care s-au selectat insulinorezistenţii;
- investigarea medico-socială şi clinico-paraclinică complexă a subiecţilor incluşi în studiu.

TABELUL II
Prevalenţa elementelor NCEPIII în lotul studiat

Lot A1	TGL ↑	HDL ↓	HTA	STG	DZ
Nr. cazuri	154	43	90	20	28
Prevalenţa IR (cazuri%)	82, 8	23, 11	48, 4	10, 75	15, 05

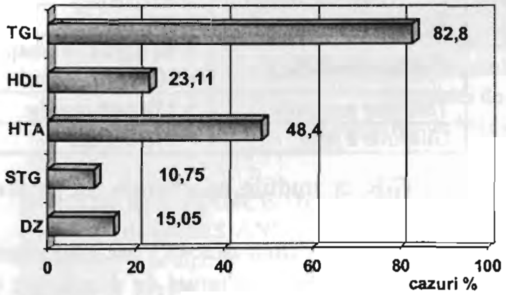


Fig. 1. Prevalenţa IR în lotul A1

REZULTATE

Prevalenţa insulinorezistenţei a calculată pe grupe de risc (tab. II, fig. 1), efectuată pe lotul A1:

- hipertrigliceridemii
- dislipidemii cu HDL scăzut
- scăderea toleranţei la glucoză
- diabet zaharat
- hipertensiune arterială

Studiul pe lotul A a fost unul de observaţie clinică transversală, a factorilor de risc, intervenţia unor factori de risc neexprimaţi suficient la începutul studiului (cum ar fi valoarea glicemiei à jeun). Sfârţitul studiului desemnează o perioadă de maxim 5 ani care a marcat factorii de risc prin agravarea lor în cea mai mare parte.

Ceea ce se remarcă este legătura directă cea mai puternică din cele efectuate, între IMC şi TA sistolică (r = 0,34) şi de asemeni corelarea directă dintre IMC şi TA diastolică (r = 0,31).

Trigliceridele au constituit una din corelările „aşteptate" pentru lotul A, întrucât comparăm doi redutabili factori de risc independenţi: talia şi trigliceridele (fig. 2). La valori de peste 100 cm, talia influenţează direct proporţional nivelul trigliceridelor, determinând o creştere a acestora peste 250 mg%.

Clinicianul ar putea să aprecieze foarte uşor riscul cardiovascular, pin simpla măsurare a perimetrului maxim al taliei (fig. 3).

Într-adevăr, presupunerile au fost confirmate şi această corelaţie a fost cea mai anticipată şi este cea mai folositoare dintre toate corelările efectuate.

CONCLUZII

Analiza şi interpretarea rezultatelor confirmă că pe eşantion probabilist de 20,6% din aceste cazuri, indicatorii antropometrici analizaţi în detaliu şi interpretaţi în asociere, confirmă diagnosticul de obezitate.

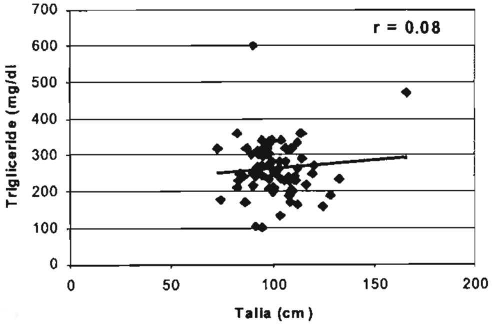


Fig. 2. Corelaţia talie - trigliceride

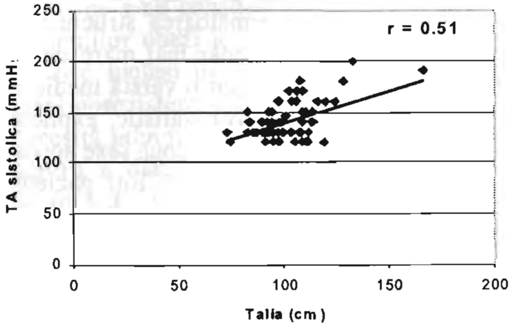


Fig. 3. Corelaţia talie – TA sistolică

Obezitatea este frecvent întâlnită în populaţie - la un segment populaţional de persoane adulte, autoselectat prin prezentare pentru îngrijiri medicale diverse la un cabinet din ambulator, totalizând 1120 persoane un număr de 483 au prezentat obezitate.

Se confirmă astfel ipoteza conform căreia obezitatea este frecventă în populaţia adultă studiată.

Principalii indicatori ai metabolismului lipidic - trigliceridele, colesterolul total şi fracţiunile acestuia HDL şi LDL - pot constitui deopotrivă atât criteriu cumulativ în diagnosticul de insulinorezistenţă cât şi factori de risc pentru bolile cardiovasculare.

Valorile medii ale trigliceridelor sunt în ambele momente ale studiului mai mari pentru pacienţii de sex masculin:

- la începutul studiului = 2,01; GL = 185; p < 0,05
- la sfârşitul studiului = 2,50; GL = 185; p < 0,05.

HDL colesterol a avut valori medii diferite pe sexe: pentru pacienţi de sex masculin; valorile medii sunt peste normal şi uşoara scădere în timp este nesemnificativ statistică.

Evaluarea nivelului glicemiei arată că în aproximativ 3 ani, 3/10 din cazurile de insulinorezistenţă dezvoltă diabet zaharat, la care se adaugă aproximativ 1/10 din cazuri cu nivelul glicemiei la limita superioară a normalului.

Am constatat că, pentru pacienţii cu insulinorezistenţă diabetul se poate constitui clinic (sau este pe punctul de a se constitui) precoce, până în primii 4 ani de la diagnosticul nostru de insulinorezistenţă.

S-a confirmat astfel ipoteza că insulinorezistenţa favorizează constituirea diabetului zaharat.

BIBLIOGRAFIE

1. Alberti KGMM, Domhorst A, Rowe AS. Metabolic rhythms in normal and diabetic man: studies in insulin treated diabetes. In: Shafrir E editor. *Contemporary Topics in the Study of Diabetes and Metabolic Endocrinology*. New York: Academic Press, 1975, 45-54.
2. Alberti KGMM, Gries FA. Management of non- insulin dependent diabetes mellitus in Europe: a consensus view. *Diabetic Med* 1988; 5: 275-281.
3. *** American Association For Clinical Endocrinology, Insulinoresistance and Coronary Artery Disease in Type 2 Diabetes. *Opportunities for Disease Prevention*. New York: McGraw Hill, 2002.
4. Andres R. Mortality and obesity: the rationale for age specific height-weight tables. In: *Principles of Geriatric Medecine and Gerontology*. NewYork: McGraw-Hill Publishers, 1994, 847-853.
5. Antonucci T, Whitcomb R, Mclain R et al. Impaired glucose tolerance is normalised by treatment with thiazolidione troglitazone. *Diabetes Care* 1997; 20: 188-193.
6. Assal J, Phand Lion S. Difficulties encountered with patients education in European Diabetic Centers. In: *Diabetes Education: How to Improve Patient Education*. Amsterdam, 1983.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

ARTICOLE ORIGINALE

HIPERHOMOCISTEINEMIA - FACTOR DE RISC ÎN TROMBOZELE VENOASE PROFUNDE. UN STUDIU DE TIP CASE-CONTROL

Cristina Hoţoleanu[1], Maria Dronca[2], Eleonora Dronca[2], R. Rusu[2], A. Andercou[3]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "I. Haţieganu" Cluj-Napoca
Facultatea de Medicină
1. Clinica a II-a Medicală
2. Catedra de Biochimie
3. Clinica a II-a Chirurgie

HYPERHOMOCYSTEINEMIA, RISK FACTOR IN DEEP VENOUS THROMBOSIS : A CASE-CONTROL STUDY (Abstract) : Hyperhomocysteinemia, an established cardiovascular risk factor, has been recently associated with deep venous thrombosis. **Material and method** : A matched case-control study was designed to assess homocysteinemia as well as the acquired risk factors in deep venous thrombosis (DVT). We enrolled 227 subjects, 127 with DVT confirmed by Doppler ultrasonography and 100 controls. Homocysteinemia was measured using reverse-phase high pressure liquid chromatography. **Results** : We found a significant association between hyperhomocysteinemia and DVT ; the associated risk was weak (p=0.025, OR : 1.7). Other risk factors significantly associated with DVT were : obesity (p=0.04, OR for DVT : 2.9), varicose veins (p=0.023, OR : 3.13), prolonged immobility (p=0.015, OR : 3.1), history of DVT (p=0.01, OR : 5.59). All these factors were found to be independent risk factors using multivariate logistic regression. **Conclusion** : hyperhomocysteinemia is an independent risk factor for DVT; the risk is not associated with the severity of hyperhomocysteinemia. **Key words** : HYPERHOMOCYSTEINEMIA, DEEP VENOUS THROMBOSIS, RISK FACTORS

Corelaţia hiperhomocisteinemiei cu tromboza venoasă, nu numai arterială („colesterolul anilor 90" sub aspectul riscului cardiovascular), este de dată mai recentă. Homocisteina este un aminoacid rezultat din metionină şi metabolizată pe 2 căi : remetilarea, care necesită vitamina B_{12} ca şi cofactor şi metiltetrahidrofolat reductaza (MTHFR) ca enzimă, şi transsulfurarea, necesitând vitamina B_6 ca şi cofactor şi cistation beta sintaza (CBS) ca enzimă.

Se apreciază că nivele serice uşor crescute ale homocisteinei se pot întâlni în 5-7% din populaţia generală. În etiologia hiperhomocisteinemiei intervin : polimorfismele MTHFR C677T, MTHFR A1298C, ale CBS, deficitele de vitamine B_6, folat, B_{12}, insuficienţa renală cronică, afecţiunile tiroidiene, neoplaziile, tratamentele cu metotrexat, fenitoin, fibraţi, acid nicotinic, fumatul, vârsta înaintată. Nivelele serice ale homocisteinei considerate patologice sunt de peste 12 µmol/L (1). Hiperhomocisteinemia este considerată uşoară la valori între 12-30 µmol/L, moderată între 30-100 µmol/L şi severă, la valori peste 100 µmol/L(1).

Hiperhomocisteinemia este asociată unui risc de TVP de 27-50% la o creştere cu 5 µmol/L peste nivelul normal (2). Studiile evidenţiază că nivele uşor sau moderat crescute ale homocisteinei se asociază cu risc crescut de 2,5-2,95 de tromboză venoasă profundă. Corelaţiile sunt mai puternice la sexul masculin (3) şi la vârstnici (4).

OBIECTIVE

Pornind de la determinismul multifactorial al TVP, obiectivul principal a fost de a analiza hiperhomocisteinemia ca factor de risc pentru TVP, iar secundar, de a evidenţia prevalenţa şi asocierile cu TVP ale factorilor dobândiţi de risc.

MATERIAL ŞI METODĂ

Am efectuat un studiu transversal, de tip case-control. Au fost incluşi în studiu un număr de 127 pacienţi cu TVP şi 100 subiecţi fără TVP, pe baza consimţământului informat scris. Au fost excluşi din lotul 1 pacienţii fără confirmare paraclinică a TVP şi din ambele loturi subiecţii cu insuficienţă renală cronică, cu afecţiuni tiroidiene, cei care urmau tratament cu metotrexat sau cu vitamine de grup B (toţi aceşti factori influenţând nivelul homocisteinemiei).

Concentraţia homocisteinei totale plasmatice (tHcy) a fost determinată prin cromatografie lichidă la presiune înaltă în fază inversă (RP-HPLC) folosind kit-ul Chromsystems (Chromsystems 4500 Instruments and Chemical Gmbh, München, Germania).

Pentru analiza statistică s-au utilizat metode de statistică descriptivă univariată pentru factorii de risc, statistică bivariată inferenţială pentru aprecierea asocierii între TVP şi factorii de risc (χ^2, Φ şi Odds Ratio, testul t), statistică multivariată inferenţială, respectiv analiza de regresie multinomială, prin care am urmărit efectul direct pe care îl are hiperhomocisteinemia asupra TVP în condiţiile în care se controlează statistic ceilalţi factori de risc. Prelucrarea datelor s-a efectuat cu ajutorul programului SPSS 15.0 pentru Windows.

REZULTATE

Lotul de pacienţi cu TVP a cuprins 127 de subiecţi cu vârstă medie de 56,38 de ani, 78 de bărbaţi şi 49 femei (sex ratio 1,59) ; lotul martor a fost selectat după criterii de vârstă şi sex similare. TVP a fost localizată la nivelul membrelor inferioare la 120 pacienţi şi la nivelul altor sedii mai puţin obişnuite la 7 pacienţi (la nivelul membrului superior, cerebral, venă portă, venă mezenterică).

Trombembolismul pulmonar (TEP) a fost prezent la 10 pacienţi cu TVP (7,87%).

Homocisteinemia a înregistrat o valoare medie de 17,39 µmol/L la pacienţii cu TVP (deviaţie standard 12,39) şi de 14,15 µmol/L în lotul fără TVP (deviaţie standard 7,16). Testul t a arătat că valoarea medie a homocisteinemiei este diferită semnificativ pentru cele două loturi la un nivel de p=0,025

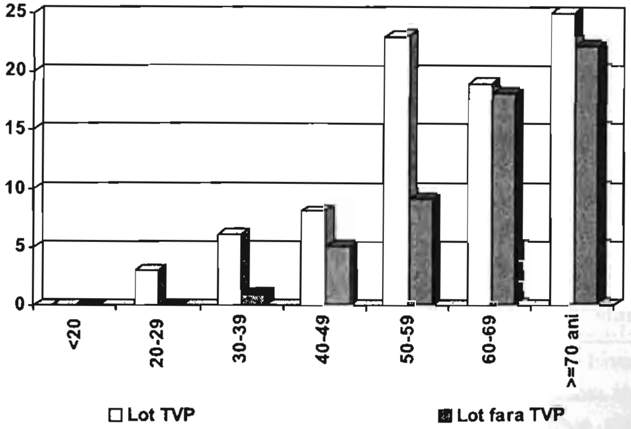


Fig. 1. Distribuţia hiperhomocisteinemiei pe decade de vârstă în cele două loturi

(pragul critic de comparaţie p=0,050). Riscul TVP, exprimat prin OR, este de 1,7 ori crescut la pacienţii cu hiperhomocisteinemie.

Hiperhomocisteinemia a fost prezentă la 84 de pacienţi cu TVP (66,14%) şi la 55 de cazuri din lotul fără TVP (55%). Un număr de 75 de pacienţi cu TVP (59,05%) şi 50 de cazuri din lotul fără TVP (50%) au prezentat hiperhomocisteinemie uşoară. Hiperhomocisteinemia moderată a fost prezentă la 8 pacienţi cu TVP (6,22%) şi 5 cazuri fără TVP (5%), iar hiperhomocisteinemia severă s-a evidenţiat numai la 1 caz în lotul cu TVP (0,78%). Nu există o asociere semnificativă între nivelul hiperhomocisteinemiei: uşor, moderat sau sever crescut, şi riscul TVP, $\chi^2 = 0,671$, p=0,715.

TABELUL I

Factori de risc TVP- regresie logistică multinomială

Variabila (Baza=prezenta atribut)	β	Exp(β) [Odds ratio]	Sig. (=p)
Intercept	1.611* (.714)		
Obezitate	1.124** (.441)	3.078	.011
Intervenţii chirurgicale recente	0.418 (.521)	1.519	.422
Boala varicoasă	1.171* (.618)	3.224	.058
TVP in istoricul personal	1.576** (.652)	4.836	.016
Imobilizare prelungită	1.199* (0.574)	3.317	.037
BPCO	-0.925 (.744)	0.397	.214
Infecţii acute	-0.219 (.627)	0.803	.726
Neoplazii	0.775 (.539)	2.170	.151
Insuficienta cardiacă grad III, IV	.116 (.555)	1.123	.834
Boli cu mecanism imun	.302 (1.132)	1.352	.790
AVC	.088 (1.001)	1.092	.930
Sindrom nefrotic	.585 (1.339)	1.796	.662
Fumat	.059 (.505)	1.061	.906
Sarcină/ postpartum	-.513 (1.005)	.599	.610
Contraceptive orale sau tratament hormonal substitutiv	-1.669 (.935)	.188	.074
Hematocrit crescut (sdr.hiperviscozitate)	.789 (.889)	2.202	.374
TVP in antecedentele familiale	-.264 (.438)	.768	.548
Hiperhomocisteinemie	.747* (.351)	2.112	.033
Vârsta	.041** (.013)	1.88	0.01

* $p <= 0.050$

** $p <= 0.010$

Se observă creşterea cu vârsta a numărului de cazuri de hiperhomocisteinemie şi numărul maxim de cazuri la subiecţii peste 70 de ani (fig. 1).

Pacienţii cu TVP şi hiperhomocisteinemie nu prezintă risc semnificativ crescut de TEP faţă de ceilalţi subiecţi: $\chi^2 = 2,325$, p=0,127.

Pe lângă hiperhomocisteinemie au intervenit şi alţi factori cu următoarele prevalenţe: obezitate (24,4% în lotul TVP vs 10% în lotul fără TVP), intervenţii chirurgicale recente (12,6% vs 8%), varice (14,2% vs 5%), imobilizare prelungită (16,5% vs 6%), BPCO (7,1% vs 12%), episod TVP în antecedente (18,9% vs 4%), episod TVP în antecedentele familiale (18,9% vs 15%), infecţii acute (5,5% vs 8%), neoplazii (12,6% vs 12%), insuficienţa cardiaca grad III, IV (12,6% vs 12%), unele afecţiuni cu mecanism imun - boală Behcet, sindrom antifosfolipidic (3,1% vs 2%), accidente vasculare cerebrale (3,1% vs 2%), sindrom nefrotic (1,6% vs 1%), sarcină sau postpartum (3,9% vs 2%), contraceptive orale sau tratament hormonal substitutiv (2,4% vs 5%), fumat (14,2 vs 13%). Nu s-a evidenţiat nici un factor de risc (dintre cei studiaţi) la 12 pacienţi cu TVP (9,4%) şi la 25 (25%) din cei fără TVP. Prezenţa factorilor multipli de risc dobândiţi (cel puţin 2) s-a remarcat într-un număr de 91 de cazuri de TVP şi la 47 de subiecţi fără TVP. Riscul TVP a fost de 2,85 ori crescut, în mod semnificativ, faţă de cazurile în care intervine doar 1 singur factor de risc sau niciunul.

S-au evidenţiat asocieri semnificative ale obezităţii (p=0,04, OR: 2,9), bolii varicoase (p=0,023, OR: 3,13), antecedentelor personale patologice pe linia TVP (p=0,01, OR: 5,59), imobilizării prelungite (p=0,015, OR: 3,1), vârstei peste 50 de ani (p= 0,04, OR: 2,12) şi hiperhomocisteinemiei cu TVP.

Utilizând regresia logistică multinomială s-au evidenţiat toţi factorii anterior menţionaţi, inclusiv hiperhomocisteinemia, ca factori de risc independenţi (tab. I).

DISCUŢII

Studiul nostru a evidenţiat hiperhomocisteinemia ca factor de risc semnificativ pentru TVP, dar un factor de risc slab, asociat unei creşteri a riscului TVP de 1,7 ori (OR: 1,7). Majoritatea datelor din literatură susţin hiperhomocisteinemia ca factor de risc slab-moderat (4,5,6).

Nu am evidenţiat diferenţe semnificative statistic între riscul TVP şi gradul de creştere al homocisteinemiei (uşor, moderat, sever), lucru arătat şi în literatură (1).

În studiul nostru am evidenţiat că homocisteinemia creşte semnificativ cu vârsta, aşa cum de altfel arată toate studiile (7,8).

Analiza bivariată inferenţială a indicat că o serie de factori se asociază cu TVP, de aceea am controlat efectul acestora printr-o analiză multivariată de regresie. De vreme ce datele noastre au fost calitative nu am recurs la o analiză de regresie clasică, ci la o regresie logistică *multinomială*. Întreg modelul nostru statistic este generalizabil la populaţia din eşantion, de vreme ce indicatorul de lipsă de adecvare -2 Log Likelihood a fost foarte mic, având in vedere numărul mare de variabile, respectiv: 245,411. Valoarea χ^2 asociată acestui indicator este de asemenea semnificativă p=0,000, iar pseudo R^2 a lui Cox şi Snell are valoarea .200, adică o adecvare medie a modelului.

Factorii de risc care s-au asociat semnificativ în analiza bivariată cu TVP s-au evidenţiat şi ca factori independenţi de risc. Majoritatea studiilor au evidenţiat aceeaşi factori de risc independenţi (9,10,11).

Unele studii au arătat o preponderenţă a hiperhomocisteinemiei la cazurile cu TVP complicate cu TEP, unde valorile medii ale homocisteinemiei au fost mai ridicate(12); în studiul nostru, TEP nu a prezentat asociere semnificativă cu hiperhomocisteinemia.

CONCLUZII

1. hiperhomocisteinemia reprezintă factor de risc independent pentru TVP
2. asocierea cu TVP este semnificativă, dar slabă (OR: 1,7)
3. asocierea cu TVP nu depinde de severitatea hiperhomocisteinemiei
4. factorii de risc dobândiţi cu prevalenţele cele mai mari au fost: obezitatea, imobilizarea prelungită, TVP în antecedentele personale şi familiale
5. factorii de risc dobândiţi independenţi au fost: obezitatea, varicele, imobilizarea prelungită, TVP în antecedentele personale, vârsta.

BIBLIOGRAFIE

1. Stanger O, Herrmann W, Pietrzik K, Fowler B, Geisel J, Dierkes J on behalf of the D.A.CH. Liga Homocysteine (German, Austrian, and Swiss Homocysteine Society). Consensus paper on the rational clinical use of homocysteine, folic acid, and B-vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases- guidelines and recommendations. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41 (10): 1392-1403.
2. Den Heijer M, Lewington S, Clarke R. Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a metya-analysis of published epidemiological studies. *J Thromb Haemost* 2000; 3 (2): 292-308.
3. Unlu Y, Keles S, Becit N, Kocogullari CU, Kocak H, Bakan E. Hyperhomocysteinaemia as a risk factor for deep-vein thrombosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005; 30 (3): 315-318.
4. Willems HPJ, den Heijer M, Havekes M et al. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for venous thrombosis in elderly patients. https://www.openaccess.leidenuniv.nl/bitstream/1887/5417/8/07.pdf
5. Cattaneo M. Hyperhomocysteinemia and venous thromboembolism. *Semin Thromb Hemost* 2006; 32 (7): 716-723.
6. Quere I, Gris JC, Dauzat M. Homocysteine and venous thrombosis. *Sem Vasc Med* 2005; 5: 183-188.
7. Ridker P, Hennekens C, Selhub J. Interrelations of hyperhomocysteinemia, factor V Leiden and risk of future venous thrombembolism. *Circulation* 1997; 95: 1777-1782
8. Oger E, Lacut K, Le Gal G et al. The EDITH collaborative study group. Hyperhomocysteinemia and low B vitamin levels are independently associated with venous thromboembolism: results from the EDITH study: a hospital-based case-control study. *J Thromb Haemost* 2004; 4: 793–799.
9. Goldhaber SZ, Visani L, De Rosa M. Acute pulmonary embolism: clinical outcomes in the International Cooperative Pulmonary Embolism Registry (ICOPER). *Lancet* 1999; 353 (9162): 1386-1389.
10. Huerta C, Johansson S, Wallander MA, García Rodríguez LA. Risk factors and short-term mortality of venous thromboembolism diagnosed in the primary care setting in the United Kingdom. *Arch Intern Med* 2007; 167 (9): 935-943.
11. Alikhan R, Cohen AT, Combe S et al. MEDENOX Study. Risk factors for venous thromboembolism in hospitalized patients with acute medical illness: analysis of the MEDENOX Study. *Arch Intern Med* 2004; 164 (9): 963-968.
12. Bhargava S, Parakh R, Manocha A, Arif A, Srivastava LM. Prevalence of hyperhomocysteinemia in vascular disease: comparative study of thrombotic venous disease vis-à-vis occlusive arterial disease. *Vascular* 2007; 15 (3): 149-153.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi – 2009 – vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **ARTICOLE ORIGINALE**

CARACTERUL AGRESIV AL ARTRITEI REUMATOIDE CU ANTICORPI ANTI PEPTID CICLIC CITRULINAT PREZENŢI

Elena Rezuş[1], Anca Grigoriu[1], C. Rezuş[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1 Clinica I de Reumatologie şi Recuperare Medicală
2 Clinica a III^{-a} Medicală-Cardiologică "Ion Enescu"

THE AGGRESSIVE FEATURE OF THE RHEUMATIC ARTHRITIS WITH THE ANTI-CYCLIC CITRULLINATED PEPTIDE ANTIBODIES POSITIVE (Abstract): Numerous studies demonstrate the high specificity (90-98%) of the anticyclic citrullinated antibodies (antiCCP) in rheumatoid arthritis (RA) and their correlation with the erosive arthritis, these antibodies being a disease activity marker and a prognostic factor. **Material and methods**: A total of 53 RA patients (48 women, 5 men), mean age 47,3 years old, diagnosed according to the ACR criteria were evaluated. The clinical evaluation was centered upon: tender joint count, swollen joint count, patient pain (VAS), morning stiffness and disease activity score (DAS28). The laboratory tests had in view: the inflammatory syndrome, blood count, immunological syndrome (antinuclear antibodies, rheumatoid factor, antiCCP antibodies), radiographs of the hands and feet. **Results**: The high levels of the anti-CCP antibodies founded in 28 patients with RA were correlated with severity of the inflammatory syndrome, the immunological abnormalities and with the precocity appearance of the joint erosions. **Conclusions**: The presence of the anti-CCP antibodies at patients with RA are correlated with severe joint destruction and it represents a marker of the disease activity and progression. **Key words**: ANTI-CYCLIC CITRULLINATED PEPTIDE ANTIBODIES, RHEUMATOID ARTHRITIS, RHEUMATOID FACTOR, ANTINUCLEAR ANTIBODIES

Poliartrita reumatoidă (PR) este o boală sistemică, inflamatorie cronică cu etiologie necunoscută şi patogenie autoimună, caracterizată printr-o artropatie cu evoluţie progresivă deformantă şi distructivă, dar şi prin manifestări sistemice multiple.

Diagnosticul precoce al poliartritei reumatoide are o importanţă deosebită deoarece permite iniţierea unei terapii de fond cât mai timpuriu şi prevenirea leziunilor articulare. La majoritatea bolnavilor cu PR, distrucţiile articulare apar în primii doi ani de la debut. Ţinând cont că în prima perioadă a PR nu sunt mereu prezente toate simptomele clinice (ce reprezintă baza recunoaşterii bolii) confirmarea diagnosticului vine adesea târziu. De aceea, cercetările clinice s-au axat pe descoperirea unor markeri serologici de înaltă sensibilitate şi specificitate, care ar permite diagnosticul cât mai precoce (1).

Factorul reumatoid (FR) este cel mai uzual marker serologic, unul dintre criteriile de diagnostic ACR. Sensibilitatea FR pentru PR a fost îmbunătăţită (70-80 %) prin testul ELISA care permite măsurarea atât a FR total cât şi a izotipurilor de FR separat (IgM, IgA, IgG). Totuşi, specificitatea FR rămâne limitată pentru PR (48-92%), fiind insuficient ca test diagnostic (FR a fost detectat şi în alte boli reumatismale, infecţioase şi chiar la persoane sănă-

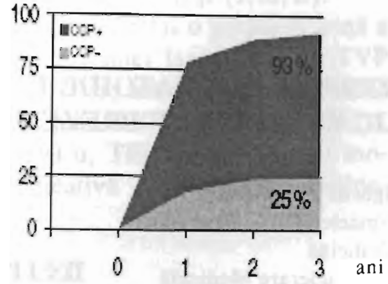


Fig. 1. Probabilitatea dezvoltării PR în funcţie de prezenţa Ac anti-CCP

toase) (2,3).

În ultimul timp mai mulţi anticorpi non-FR au fost descoperiţi şi raportaţi ca având valoare diagnostică şi clinică. De un interes special sunt anticorpii anti peptid ciclic citrulinat (Ac.anti-CCP) descrişi de Schellekens şi van Jaarsveld. Aparţinând familiei de anticorpi antifilagrină împreună cu anticorpii antikeratină şi factorul perinuclear (4,5), Ac anti-CCP au în PR o sensibilitate comparabilă cu a FR (66-88%) dar o specificitate mult mai mare de 90-99%. De asemenea, de mare importanţă este faptul că prezic cu mare acurateţe evoluţia către PR a unei artrite nediferenţiate, putând fi detectaţi la indivizii sănătoşi cu ani înainte de debutul PR (studiile arată că în multe cazuri apar cu 10 ani înaintea debutului PR) (5). Aceste rezultate indică faptul că citrulinarea antigenelor sinoviale şi producerea de anticorpi împotriva acestor antigene citrulinate este iniţiată foarte timpuriu în PR (fig. 1) (6).

O altă concluzie importantă a studiilor ne demonstrează că Ac anti-CCP sunt un bun marker de prognostic şi au o putere de discriminare crescută între PR intens erozivă şi PR mai puţin erozivă (7).

În literatură se regăsesc rezultate controversate privind efectul terapiei asupra nivelului de Ac anti-CCP, de obicei observându-se o scădere a titrului asociată cu o durată mai scurtă a bolii (8,9).

Studiind rolul fiziopatogenic şi imunogenetic al Ac anti-CCP (asocierea bolii cu Ac anti-CCP pozitivi şi a bolii cu Ac anti-CCP negativi cu diferiţi factori genetici), avem un indiciu că PR anti CCP+ şi PR anti CCP – sunt două entităţi de boală cu proprietăţi fenotipice diferite, deci cu o prezentare clinică şi un curs al bolii diferit. Recent, un studiu pe două populaţii caucaziene a arătat că epitopul de suprafaţă codat de alelele HLA-DBR1 este asociat cu PR la pacienţii cu Ac anti-CCP prezenţi, dar nu şi la pacienţii fără aceşti anticorpi. Aceste descoperiri sunt importante pentru că indică faptul că alelele epitopului de suprafaţă nu sunt asociate cu PR, ci mai degrabă cu un fenotip al bolii (5,10).

Având în vedere importanţa acestor anticorpi în patogenia şi evoluţia PR, recent se discută tot mai mult de introducerea Ac anti-CCP în noile criterii de diagnostic pentru PR (11,12).

Utilizând teste diagnostice cu o specificitate mare, printre care fac parte şi Ac anti-CCP, putem institui astfel un tratament de fond optim cât mai precoce în evoluţia bolii.

MATERIAL ŞI METODĂ

S-au studiat 53 de pacienţi cu diagnosticul cert de PR (conform criteriilor de diagnostic ACR) aflaţi în evidenţa Clinicii de Reumatologie şi Recuperare Medicală a Spitalului Clinic de Recuperare în perioada februarie 2006 – februarie 2007. Studiul a avut drept obiectiv incercarea de a răspunde la următoarele două probleme:

1. Există diferenţe între fenotipul pacienţilor cu PR cu şi fără Ac anti-CCP prezenţi din punct de vedere clinic si paraclinic (în momentul prezentării şi în evoluţie)?

2. Sunt Ac anti-CCP asociaţi cu o severitate mai mare a bolii şi un prognostic nefavorabil?

Lotul de studiu a fost compus din 48 femei (90,5%) şi 5 bărbaţi (9,5%) cu vârste cuprinse între 49-70 de ani, în diferite stadii clinico-radiologice şi la care li s-au iniţiat următoarele scheme de tratament imunosupresor: Methotrexat – 22 pacienţi (41,5%), Sulfasalazină – 16 pacienţi (30,1%), Leflunomid – 8 pacienţi (15,2%), terapie biologica (Infliximab) – 7 pacienţi (13,2%).

Evaluarea pacienţilor s-a realizat din punct de vedere:

1) Clinic: examinarea clinică atât la includerea în studiu cât şi în perioada de urmărire (la 6 şi la 12 luni) s-a bazat pe cuantificarea numărului de articulaţii dureroase, intensitatea durerii articulare, numărului de articulaţii tumefiate, perioada de redoare matinală.

2) Imunologic: a inclus studiul următorilor parametri imunologici:

- *FR* a fost determinat prin testul ELISA; valorile pozitive pentru FR total au fost considerate peste 20 U/mL;
- *Anticorpii antinucleari totali* (AAN) au fost decelaţi prin ELISA, iar valorile pozitive au fost peste 20 U/mL;
- *Anticorpii anti-peptid ciclic citrulinat* (Ac anti-CCP) au fost analizaţi prin ELISA folosind cea de-a doua generaţie de teste. Tehnica are la bază peptide sintetice înalt purificate ce conţin reziduuri de arginină modificate (citrulină) care deservesc drept antigen. Valorile pozitive ale Ac anti-CCP au fost peste 15 U/mL.

3) Radiologic: la toţi pacienţii s-au efectuat radiografii standard de mâini atât la admisie cât şi la finalul studiului (12 luni).

4) Evaluarea activităţii bolii şi a statusului funcţional: activitatea bolii a fost apreciată prin măsurarea sindromului inflamator (VSH, proteina C reactivă) şi scorului DAS 28, iar statusul funcţional prin scorul HAQ.

REZULTATE

Am inclus în studiu un număr de 53 pacienţi diagnosticaţi cu PR conform criteriilor ACR, din care 48 femei (90,5%) şi 5 bărbaţi (9,5%), cu un raport de distribuţie pe sexe F/B de 9,6:1, o vârsta medie de 47,3 ani, o durată medie de evoluţie a bolii de 1,8 ani, ce au beneficiat de tratament de fond în monoterapie, în doze uzuale cu unul din cele trei droguri DMARDs: Methotrexat – 22 pacienţi (41,5%), Sulfasalazina – 16 pacienţi (30,1%), Leflunomid – 8 pacienţi (15,2%) sau terapie asociată: biologică (Infliximab) + DMARDs – 7 pacienţi.

Terapia a fost aleasă funcţie de valorile mai mari ale Ac anti-CCP, FR şi markerilor de activitate a bolii (VSH, CRP), valorile medii ale parametrilor clinici la includerea în studiu fiind distribuite uniform în cele 4 grupuri de pacienţi la care s-au instituit scheme de tratament diferite.

Având în vedere obiectivele stabilite ale studiului, analiza parametrilor clinici şi paraclinici iniţial şi în evoluţia bolii s-a realizat comparativ în funcţie de prezenţa Ac anti-CCP. Astfel, evaluarea imunologică la admisia în studiu a împărţit lotul de pacienţi în două grupuri, unul de 28 pacienţi cu Ac anti-CCP prezenţi şi altul de 25 cu Ac anti-CCP absenţi. Urmărind profilul serologic al pacientilor la includere în studiu se remarcă puternica asociere a prezenţei Ac anti-CCP cu prezenţa FR şi a Ac antinucleari totali (26 cu FR+ şi 18 cu ANA totali +, din 28 pacienţi cu Ac anti-CCP+) spre deosebire de grupul pacienţilor cu Ac anti-CCP negativi unde doar 4 au avut FR+ şi 3 ANA totali +. 17 pacienţi au avut toţi cei trei parametri imunologici în titruri crescute, ceea ce s-a asociat şi cu o evoluţie nefavorabilă a bolii.

Tratamentul remisiv s-a dovedit eficient indiferent de schema terapeutică utilizată, evaluarea pacienţilor fiind făcută comparativ între cele două grupuri cu Ac anti-CCP pozitivi şi negativi.

Evoluţia parametrilor clinici şi a celor de activitate şi de măsurare a scorului funcţional al bolii este redată în figurile 2, 3 şi

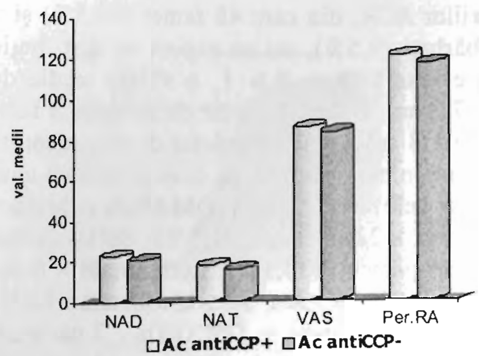


Fig. 2. Parametrii clinici la includerea în studiu

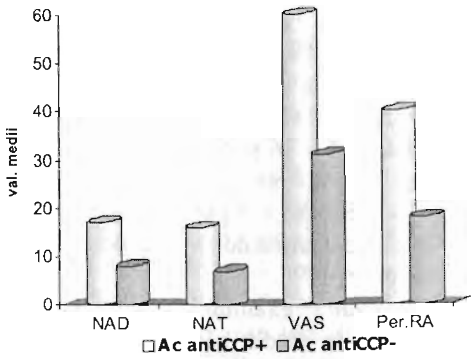


Fig. 3. Parametrii clinici la 12 luni

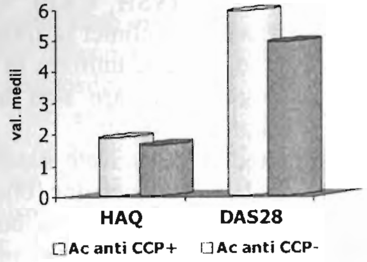


Fig. 4. Evoluţia statusului funcţional şi scorului de activitate a bolii la includerea în studiu

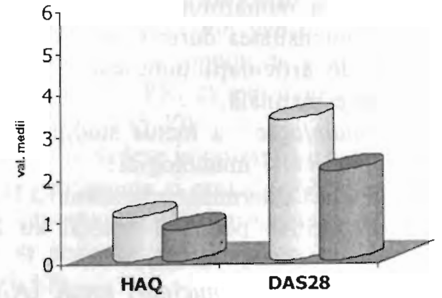


Fig. 5. Evoluţia statusului funcţional şi scorului de activitate a bolii la 12 luni

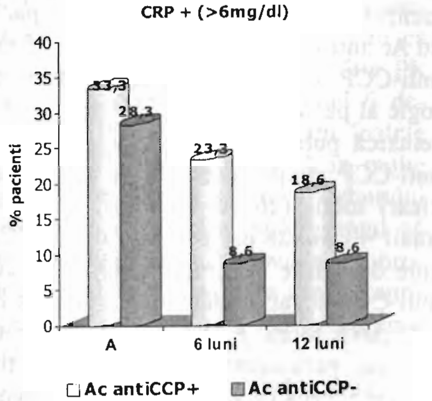


Fig. 6. Evoluţia CRP+

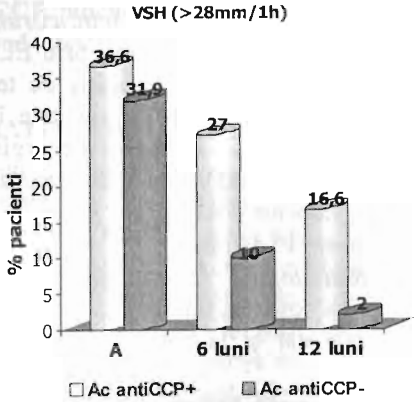


Fig. 7. Evoluţia VSH

4, 5. Se remarcă o reducere semnificativă a numărului de articulaţii dureroase, tumefiate, a diminuării duratei redorii matinale, a îmbunătăţirii statusului funcţional (HAQ), şi ameliorarea scorului de activitate a bolii (DAS28) în ambele grupuri, mult mai semnificativă la pacienţii cu Ac antiCCP absenţi.

Studiul sindromului inflamator s-a axat pe elementele clasice: viteza de sedimentare a hematiilor (VSH) şi proteina C reactivă (CRP). Aceşti doi markeri ai activităţii bolii au înregistrat o ameliorare semnificativă, indiferent de tratamentul administrat, cea mai marcată scădere fiind evidentă la pacienţii cu Ac antiCCP negativi (fig. 6, 7).

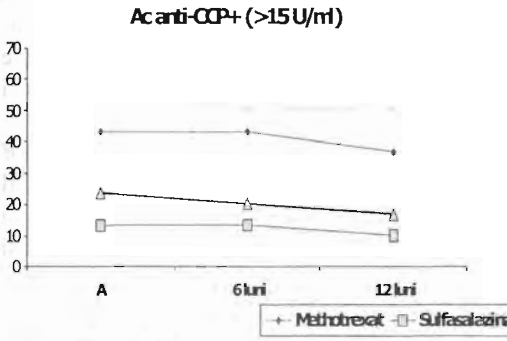


Fig. 8. Evoluţia Ac anti-CCP+

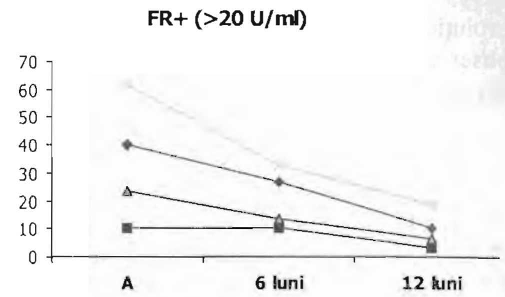


Fig. 9. Evoluţia FR+

Dinamica markerilor imunologici este descrisă în figurile 8, 9. Monitorizarea imunologică pe parcursul unui an (la 0, 6 şi 12 luni) sub cele 4 scheme terapeutice relevă diferenţe semnificative, astfel încât există o evoluţie staţionară a numărului de pacienţi cu Ac anti CCP pozitivi (doar un număr foarte mic de 4 pacienţi devenind negativi pentru aceşti Ac), în schimb dinamica normalizării valorilor FR este semnificativă, cea mai importantă evoluţie fiind remarcată în cazul asocierii terapeutice Infliximab şi DMARDs.

Sub aspect radiologic s-a observat o evoluţie staţionară la pacienţii cu Ac antiCCP absenţi şi o evoluţie nefavorabilă la pacienţii cu Ac antiCCP prezenţi, prin apariţia modificărilor erozive la încă 2 pacienţi, având ca element comun asocierea valorilor crescute ale FR cu cele ale Ac anti-CCP.

DISCUŢII

Studiul ne arată că fenotipul pacienţilor cu Ac antiCCP+ şi cu antiCCP- nu relevă diferenţe semnificative în momentul prezentării şi iniţierii terapiei, cu excepţia unui număr mai mare de pacienţi cu modificări erozive asociat Ac antiCCP+. În plus, în evoluţie, ameliorarea clinică, biologică şi a activităţii bolii este puternic corelată cu absenţa Ac antiCCP. Urmărind astfel profilul serologic al pacienţilor cu modificări erozive se poate sugera existenţa unei legături puternice între distrucţia articulară şi valorile crescute ale Ac antiCCP.

Ac antiCCP sunt puternic asociaţi cu prezenţa FR şi ANA totali, un procent mare de pacienţi găsindu-se pozitivi în ceea ce priveşte toţi parametri imunologici. Prezenţa simultană a Ac antiCCP şi FR reflectă severitatea şi progresia bolii, corelată cu prezenţa eroziunilor articulare şi impune un tratament mai agresiv. La pacienţii cu o activitate a bolii mai mare şi artrită erozivă mai severă s-au instituit tratamente mai agresive (Methotrexat, Leflunomid, Infliximab) astfel încât la finalul studiului eficienţa terapeutică a fost dovedită indiferent de statusul imunologic iniţial.

În ceea ce priveşte dinamica serologică se poate afirma că tratamentul remisiv influenţează marcant evoluţia clinică şi dinamica FR, şi foarte puţin dinamica Ac anti-CCP, la fel ca şi evoluţia radiologică.

Cu toate că dinamica anticorpilor anti-CCP nu relevă diferenţe semnificative (un singur pacient devenind negativ pentru Ac antiCCP la 6 luni, 5 pacienţi la 12 luni), indiferent de terapia urmată, semnificaţia ei este interesantă deoarece trendul valorilor absolute a fost descrescător în condiţiile ameliorării tabloului clinic şi a sindromului inflamator.

Valorile serice iniţiale mai mici ale anticorpilor antiCCP, corelate cu evoluţia clinică favorabilă sub tratament remisiv a acestor pacienţi, pot fi un punct de plecare în atribuirea rolului de predictor asupra evoluţiei PR a acestor anticorpi; această observaţie necesită confirmarea studiilor amănunţite.

CONCLUZII

Conturând răspunsurile la cele două întrebări stabilite ca obiective ale studiului putem afirma în primul rând că fenotipul pacienţilor cu PR cu şi fără Ac antiCCP prezenţi este similar iniţial (la prezentare) cu excepţia unor asocieri între Ac anti-CCP+ şi prezenţa mai mare a eroziunilor radiologice. În evoluţie diferenţa este evidentă, răspunsul la terapie fiind mai bun la cei cu Ac antiCCP-, ceea ce impune o strategie terapeutică individualizată şi scheme de tratament agresive la pacienţii cu valori mari ale anticorpilor antiCCP.

În al doilea rând, prezenţa anticorpilor antiCCP permite diagnosticul precoce al PR, se corelează cu distrucţia articulară şi reprezintă un marker pentru activitatea şi progresia bolii.

Rezultatele discutate ce au derivat din prezentul studiu sunt un punct de plecare pentru cercetări mai ample, interpretarea lor fiind limitată de numărul mic de cazuri studiate şi perioada relativ scurtă de urmărire.

BIBLIOGRAFIE

1. Marineaţă St, Cernescu C, Predeţeanu D. Anticorpi anti peptid ciclic citrulinat în poliartrita reumatoidă. *Rev Rom Reumatol* 2004; XIII (2): 61-64.
2. De Rycke L, Verhelst X, Kruithof E et al. Rheumatoid factor, but not anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, is modulated by infliximab treatment in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Diseases* 2005; 64: 299-302.
3. Lee DM, Schur PH. Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 870-874.
4. Rantapaa - Dahlqvist S. Diagnostic and prognostic significance of autoantibodies in early rheumatoid arthritis. *Scandinavian J Rheum* 2005; 34: 83-96.
5. De Rycke L, Peene I, Hoffman IEA et al. Rheumatoid factor and anticitrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: diagnostic value, associations with radiological progression rate, and extra-articular manifestation. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1587-1593.
6. Alessandri C, Bombardieri M, Papa N et al. Decrease of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor following anti-TNFá therapy (infliximab) in rheumatoid arthritis is associated with clinical improvement. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1218-1226.
7. Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, Skogh T. Anti-CCP antibody tests predict the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1085-1089.
8. Forslind K, Ahlmen M, Eberhardt K, Hafstrom I, Svensson B. Prediction of radiological outcome in early rheumatoid arthritis in clinical practice: role of antibodies to citrullinated peptides. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1090-1095.
9. Vallbracht I, Rieber J, Oppermann M, Forger F, Siebert U, Helmke K. Diagnostic and clinical value of anti-ciclic citrullinated peptide antibodies compared with rheumatoid factor isotypes in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1079-1084.
10. van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ et al. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis. *Arthritis & Rheum* 2004; 50: 709-715.
11. Dubucquoi S, Solau-Gervais E, Lefranc D et al. Evaluation of anti-citrullinated filaggrin antibodies as hallmarks for the diagnosis of rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 415-419.
12. van der Helm-van Mil AHM, Verpoort KN, Breedveld FC, Toes REM, Huiinga TWJ. Antibodies to citrullinated proteins and differences in clinical progression of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005; 7: R949-R958.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi – 2009 – vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

ARTICOLE ORIGINALE

CERCETĂRI CLINICO-EPIDEMIOLOGICE ASUPRA EVOLUŢIEI INTERNĂRILOR PENTRU SPONDILITA ANCHILOZANTĂ ÎN CLINICA DE REUMATOLOGIE ŞI RECUPERARE MEDICALĂ, SPITALUL DE RECUPERARE IAŞI, ÎN PERIOADA 1990-2007

Mioara-Maria Ţigău[1], Elena Rezuş[2], Alina Manole[3], Mioara Matei[3], A. Ivan[3]
Spitalul Clinic de Recuperare Iaşi
1. Clinica de Reumatologie şi Recuperare medicală
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr. T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
2. Clinica de Reumatologie şi Recuperare medicală
3. Disciplina de Asistenţa Primară a Stării de Sănătate şi Epidemiologie

CLINICAL EPIDEMIOLOGICAL RESEARCH ON EVOLUTION OF ADMISSIONS FOR ANKYLOSING SPONDILITIS IN THE CLINIC OF RHEUMATOLOGY AND MEDICAL REHABILITATION, HOSPITAL OF REHABILITATION IASI, BETWEEN 1990-2007 (Abstract): **Material and method**: A retro-prospective study was carried out on a sample of 678 patients suffering from ankylosing spondilitis (AS), admitted in the Clinic of Rheumatology, Rehabilitation Hospital, Iaşi. **Results**: The analysis highlighted that 86.8% were males, with a soft predominance of urban area (57.1%). Over 50% of the entire sample was exposed to risk factors from industrial area; 11.6% from agriculture; 10.5% - various categories of intellectuals, and 17.8% included domestic and socioeconomic activities, difficult to estimate. Analysis of temporal interval between onset and diagnosis establishment attested that it was been performed during the first year for 42.7%; next 2-9 years, for 40.1%, and in 17.5% of cases, 10 and over 21 years. **Conclusion**: Difficulties in early diagnosis achievement, in order to obtain optimal therapeutic results and, consequently, reduce the important impact on patient, family and society, placed AS among diseases with serious medical, social and economic involvements. **Key words**: ANKYLOSING SPONDILITIS, PREVALENCE, OCUPATIONAL STATUS, RHEUMATOLOGY, REHABILITATION

Spondilita anchilozantă (SA), maladie cu etiopatogenie multifactorială, continuă să constituie o importantă problemă pentru sănătatea populaţională, în cele mai variate arii geografice (1,2,3,4), urmare a dificultăţilor în realizarea diagnosticului precoce şi a obţinerii unor rezultate terapeutice care să reducă din impactul, uneori dezastruos, avut asupra bolnavului, familiei şi societăţii (5,6,7,8).

Cercetările epidemiologice colaborative, multidisciplinare, realizate inclusiv pe loturi şi perioade reprezentative de bolnavi asistaţi în servicii medicale de reumatologie şi recuperare, aduc informaţii valoroase pentru orientarea programelor de supraveghere epidemiologică, clinică şi de laborator a grupurilor cu risc şi a pacienţilor spitalizaţi (9,10,11,12).

Şi datele cercetărilor noastre, clinico-epidemiologice, se pot constitui într-o contribuţie în direcţia ameliorării eficienţei prevenţional-terapeutice a asistenţei pentru bolnavii cu SA.

MATERIAL ŞI METODĂ

Cercetările au inclus 678 bolnavi cu SA, asistaţi în Clinica de Reumatologie şi Recuperare Medicală din Spitalul de Recuperare Iaşi, în perioada 1990-2007. Din întregul lot, 86,8% au fost bărbaţi, 57,1% din mediul urban, cu o distribuţie relativ uniformă, în 6 grupuri de vârstă, dintre care 15,4% până la 25 ani. Culegerea informaţiilor s-a realizat prin colaborarea cu serviciile de statistică medicală ale Spitalului Clinic de Recuperare Iaşi; Autoritatea Judeţeană de Sănătate Publică Iaşi; Centrul Naţional pentru organizarea şi asigurarea sistemului informaţional şi informatic în domeniul sănătăţii - MSP Bucureşti şi fişa de anchetă clinico-epidemiologică, special concepută.

Prelucrarea şi interpretarea datelor au fost realizate prin metode epidemiologice (ancheta), statistico-matematice (p, DS, ă^{2}, tendinţa) şi computerizate.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

1. *Repartiţia pe sex*. În cei 18 ani luaţi în studiu, din lotul de 678 bolnavi spitalizaţi pentru SA, 589 (86,8%) au fost bărbaţi şi 89 (13,2%) femei, ceea ce reflectă o diferenţă puternic semnificativă în favoarea bărbaţilor ($p < 0{,}005$). Deşi explicaţiile pentru afectarea preponderentă a sexului masculin sunt uneori contradictorii, datele clinico-epidemiologice susţin ipotezele conform cărora amprentele genetice în asociere cu factori socio-economici, comportamentali şi, posibil, şi intervenţia factorilor naturali, pot explica o prevalenţă mult mai ridicată a SA la bărbaţi.

2. *Repartiţia pe medii* a evidenţiat o diferenţă uşor semnificativă între urban (57,1%) şi rural (42,9%) ($p<0{,}05$). „Ştergerea" diferenţei între urban şi rural poate fi urmarea modificărilor care au avut loc între cele două medii, îndeosebi prin migrarea, în ultimele 3-4 decenii, din rural spre urban, a unor importante categorii demografice. Acest fenomen a determinat o mixare şi o asociere puternică a unor factori care, în mediul urban, pot fi consideraţi cu risc pentru apariţia SA (condiţiile de viaţă şi muncă, poluarea, stresul ocupaţional şi familial, comportamentele nutriţionale etc.).

3. *Repartiţia anuală*, pentru cei 18 ani luaţi în studiu, atât în ceea ce priveşte sexul, cât şi mediul, nu au evidenţiat diferenţe semnificative ale valorilor de prevalenţă a cazurilor de SA asistate în clinica de specialitate. Cu excepţia anilor 1993, 1994, 1996 şi 2000, când valorile de prevalenţă au depăşit, în mod nesemnificativ, nivelul a 50 cazuri asistate anual, în toţi ceilalţi 14 ani, valorile au fost mai reduse (în 7 din 18 ani, numărul anual al bolnavilor spitalizaţi a fost sub 30). Dispersia multianuală pe cele două medii a înregistrat, în majoritatea anilor, diferenţe nesemnificative (excepţie, anii 1998, 2002 şi 2005 pentru urban şi 1999, 2002 şi 2006, pentru rural), care pot fi explicate prin natura formelor clinice şi, îndeosebi, dificultăţile privind accesibilitatea la internare.

4. *Repartiţia pe grupuri de vârstă*. În perioada celor 18 ani luaţi în studiul epidemiologic retroprospectiv, cele 678 cazuri de SA asistate în clinica de specialitate s-au repartizat relativ uniform, pe 6 grupuri de vârstă. S-a remarcat, totuşi, o prevalenţă cu valori mai crescute la grupul de vârstă de până la 25 ani (18,4%), cu unele ascensiuni, peste media perioadei, în 1994 (27,6%); 1995 (39,6%); 1996 (22%); 1997 (30%); 2002 (22,2%) şi 2004 (23,8%).

În cazul grupurilor de peste 45 ani, valorile prevalenţei, pentru întreaga perioadă de 18 ani, au fost cele mai ridicate (26,8%). Nivelurile de morbiditate mai mici de 20% s-au semnalat numai în 4 ani (1997, 1998, 2002 şi 2006). Deşi dificil de explicat diferenţele anuale ale morbidităţii prin SA, se pot pune în discuţie: forma clinică, stabilirea tardivă a diagnosticului, accesibilitatea diferită la o asistenţă spitalizată, condiţiile socio-economice şi cele educaţionale (fig. 1).

5. *Repartiţia pe categorii ocupaţionale*. Etiologia multifactorială a SA include în etiopatogeneză, pe primul loc, amprenta genetică, corelată cu sexul masculin, la care însă se pot asocia numeroşi factori care au capacitatea de a „incita" gena care guvernează predispoziţia pentru SA. Aceşti factori se găsesc, cu prevalenţă şi potenţial variabil, în condiţiile ocupaţionale puternic intricate („mixturi cu risc") cu cele socio-economice generale. Între factorii de risc, un loc particular îl ocupă stresul („distresul") ocupaţional, deseori asociat cu cel familial, comportamentele cotidiene, inclusiv nutriţionale sau legate de consumul unor droguri (alcool, tutun, medicamente, opiacee etc.).

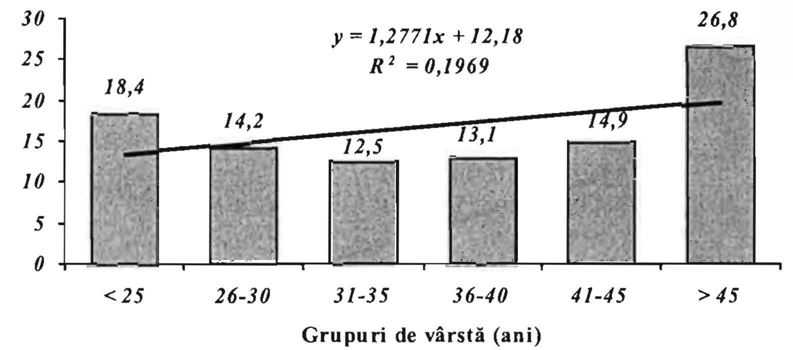


Fig. 1. Repartiţia pe grupuri de vârstă a 678 cazuri de spondilită anchilozantă, spitalizate în Clinica de Reumatologie şi Recuperare Medicală Iaşi, în perioada 1990-2007

În cazul nostru, 1/3 din întregul lot a fost reprezentată de pensionari care, pentru zona geografică la care ne referim, provin predominant din mediul industrial. Dacă adăugăm cei 27% muncitori internaţi pentru SA, rezultă că peste 50% din cazuri se pot considera a fi expuse la factorii de risc prezenţi, în exces, în diferite profiluri ale producţiei industriale. Şi 11,6% dintre bolnavi declaraţi a fi agricultori au inclus, în proporţii importante, pe cei care au fost şi/sau sunt implicaţi în mecanizarea şi chimizarea agriculturii. Deci, şi aceştia au fost expuşi unor factori de agresiune pentru sănătate, în general şi pentru sistemul imunitar, în special. Intelectualii (10,5%) au fost reprezentaţi, în special, de inginerii de diferite profiluri. Pentru aceştia, putem accepta intervenţia prioritară a unor categorii de stres şi a diferitelor practici ocupaţionale generatoare de factori de risc, dificil de cuantificat.

În categoria „alţii", cu o proporţie semnificativă (17,8%), au fost incluse o gamă largă de ocupaţii domestice şi socio-economice, pentru care este imposibil de evidenţiat factorii de risc, care să potenţeze intervenţia mecanismelor genetice în inducerea SA (fig. 2).

6. *Evaluări asupra intervalului temporal dintre debut şi stabilirea diagnosticului*. Cercetările noastre au evidenţiat faptul că numai 42,7% din cele 678 cazuri spitalizate în 18 ani de zile, au fost diagnosticate cu SA, în primul an de la debut; 272 (40,1%) în următorii 2-9 ani şi 119 (17,5%) între 10 şi peste 21 ani. Deci, un diagnostic

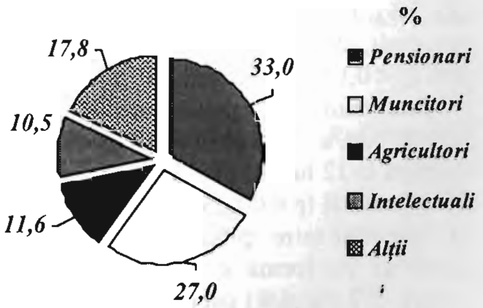


Fig. 2. Repartiţia pe categorii ocupaţionale a 678 cazuri de spondilită anchilozantă, spitalizate în Clinica de specialitate, în perioada 1990-2007

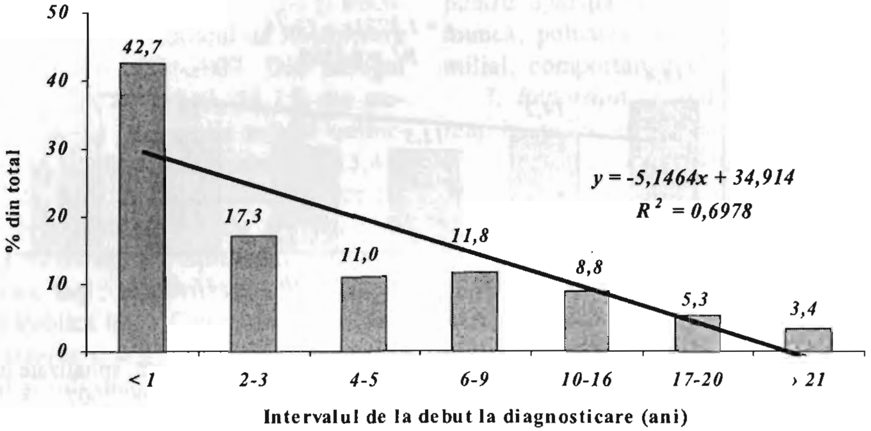


Fig. 3. Distribuţia în raport cu intervalul de la debut la diagnosticare, a 678 cazuri de spondilită anchilozantă, asistate în Clinica de specialitate, în perioada 1990-2007

tardiv, cu impact negativ, atât medical, cât şi socio-economic, a fost realizat pentru 388 (57,2%) cazuri de SA.

Distribuţia anuală, pe cele 7 categorii temporale, nu a evidenţiat diferenţe semnificative, cu excepţia anului 2000 cu 26,8% diagnosticări după 17-20 ani de la debut şi anul 2001 (15,8%); după 21 ani; 2002 (11,1%) şi 2005 (12,5%) (fig. 3).

7. Analiza distribuţiei, în raport cu frecvenţa, ritmul internărilor şi forma clinică. În perioada 1990-2007, cele 678 cazuri de SA au necesitat, în mod variabil, câte 1 până la peste 3 internări. Dintre acestea, de 1-2 internări au beneficiat 419 (61,8%) bolnavi, cu 3 - 97 (14,3%) şi peste 3 - 162 (23,9%). Deci, între prima şi celelalte două categorii, diferenţa este relativ semnificativă (p<0,05).

Intervalul dintre spitalizări, evaluat în luni de zile, a fost în 445 (65,6%) din cazuri de până la 12 luni şi 233 (34,4%) au depăşit acest interval (p<0,005). Atât frecvenţa, cât şi intervalul între spitalizări, a fost în concordanţă cu forma clinică a bolii, care, pentru 357 (52,6%) pacienţi a fost de nivel mediu, pentru 194 (28,6%) manifestările clinice au fost uşoare, iar în cazul a 123 (18,1%) pacienţi, acestea au fost severe.

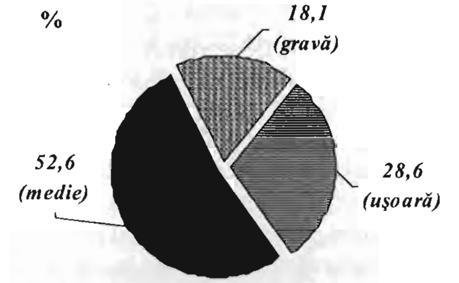


Fig. 4. Forme clinice de evoluţie pentru 678 cazuri de spondilită anchilozantă, asistate în Clinica de specialitate, în perioada 1990-2007

Cumulând valorile, a rezultat că 551 (81,3%) pacienţi au prezentat formă clinică uşoară şi/sau medie, ceea ce înseamnă o diferenţă puternic semnificativă, comparativ cu cele 123 (18,1%) cazuri cu forme clinice severe (p<0,005).

Din aceste elemente de evaluare, s-au obţinut informaţii care conturează gravitatea implicaţiilor medicale şi socio-economice ale SA şi pledează pentru necesitatea ameliorării eficienţei programelor de supraveghere a persoanelor cu risc, pentru realizarea unui diagnostic precoce şi instituirea terapiei adecvate (fig. 4).

CONCLUZII

Dificultăţile în realizarea diagnosticului

precoce, care ar favoriza obţinerea unor rezultate terapeutice optime şi, consecutiv, reducerea impactului, uneori dezastruos, asupra bolnavului, familiei şi societăţii, situează SA între maladiile cu grave implicaţii medicale, sociale şi economice.

În cei 18 ani luaţi în studiu, din lotul de 678 bolnavi spitalizaţi pentru SA, 86,8% au fost bărbaţi, cu o uşoară predominanţă a mediului urban (57,1%). Valorile prevalenţei, pe grupuri de vârstă, pentru întreaga perioadă, au înregistrat, pentru cele sub 15 ani, 18,4%, iar pentru peste 15 ani, 26,8%.

Evaluările, în legătură cu categoriile ocupaţionale, au relevat că peste 50% din întregul lot de bolnavi au fost expuşi la factori de risc din medii industriale; 11,6% din agricultură; 10,5% - variate categorii de intelectuali şi 17,8% au inclus activităţi domestice şi socio-economice dificil de caracterizat.

Analiza intervalului temporal dintre debut şi stabilirea diagnosticului a evidenţiat că acesta a fost realizat în primul an pentru 42,7%; în următorii 2-9 ani, 40,1% şi în 17,5% din cazuri, s-au consemnat 10 şi peste 21 ani.

Frecvenţa spitalizărilor pentru un bolnav şi intervalul între acestea a fost în concordanţă cu forma clinică: 1-2 internări - 61,8%; 3 - 14,3%; peste 3 - 23,9%. Intervalul dintre spitalizări a fost în 65,6% din cazuri, până la 12 luni de zile şi 34,4% au depăşit acest interval.

BIBLIOGRAFIE

1. Ivan A, Nuţescu O. Epidemiologia bolilor reumatismale cronice. În: *Epidemiologia bolilor netransmisibile*. Ivan A, Ionescu T, Teodorovici G editors. Bucureşti: Ed. Medicală, 1981, 494-517.
2. Walker J. Ankylosing spondylitis. *Nurs Stand* 2006; 20 (46): 48-52.
3. Boloşiu HD. *10 teme de reumatologie*. Cluj-Napoca: Ed. Medicală Universitară, 2003.
4. Roşu D. *Spondiloartropatii seronegative*. Craiova: Ed. Medicală Universitară, 2004.
5. Dagfinrud H, Mengshoel AM, Hagen KB et al. Health status of patients with ankylosing spondylitis: a comparison with the general population. *Ann Rheum Dis* 2004; 63 (12): 1605-1610.
6. Braun J. Epidemiology and prognostic aspects of ankylosing spondylitis. *Radiol* 2004; 44 (3): 209-210, 212-216.
7. Rudwaleit M, Feldtkeller E, Sieper J. Easy assessment of axial spondyloarthritis (early ankylosing spondilitis) at the bedside. *Ann Rheum Dis* 2006; 65 (9): 1251-1252.
8. Zlnay D, Zlnay M, Rovensky J. Ankylosing spondylitis. The current situation and new therapeutic options. *Vnitr Lek* 2006; 52 (7-8): 730-735.
9. Robertson LP, Davis MJ. A longitudinal study of disease activity and functional status in hospital cohort of patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol* (Oxford) 2004; 43 (12): 1565-1568.
10. Şuţeanu Şt. Spondilita anchilozantă. În: *Tratat de medicină internă - Reumatologie*. vol. I. P. Păun editor. Bucureşti: Ed. Medicală, 1999, 774-809.
11. Ionescu R. *Esenţialul în reumatologie*. Bucureşti: Ed. Medicală „Amaltea", 2006.
12. Chiriac R, Mutică M, Nacu C, Cârdei M. The forefoot in ankylosing spondylitis. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iaşi* 1995; 99 (3-4): 261-263.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE ARTICOLE ORIGINALE

CONTRIBUŢII LA MONITORIZAREA VEZICULEI BILIARE LITIAZICE ÎNTR-UN AMBULATOR ŞI ÎNTR-UN SERVICIU DE GASTRO-ENTEROLOGIE DIN BACĂU

G. Oancă[1], C. Petraru[2], Maria Oancă[3]
1. Cabinet Medical Poliţia Bacău
Spitalul Judeţean de Urgenţă Bacău
2. Secţia de Gastroenterologie şi Hepatologie
3. Cabinet medical individual medicină de familie Bacău

CONTRIBUTIONS TO GALL STONES MONITORING IN AN AMBULATOR AND GASTROENTEROLOGY SECTION FROM BACAU (Abstract): The paper presents the results of a 83-cases study that have been admitted into the local hospital, with from gall stones, between September 1st, 2006 and April 1st, 2007. The study purpose was the research of gall suffering affections and/or together with other pathologies, in order to highlight age and gender peculiarities, as well as to show other pathologies that seems to have a connection with gall suffering. Paraclinical investigations were necessary for the diagnosis, and complication monitoring. **Key words**: GALL BLADDER, GALL STONES, DESCRIPTIVE STUDY

Litiaza veziculei biliare poate fi singulară sau însoţită de prezenţa calculilor în căile biliare intra- şi extrahepatice, când se atribuie termenul generic de litiază biliară. Această afecţiune poate să apară de la vârste mici, dar frecvenţa sa creşte odată cu înaintarea în vârstă, urmare a stazei veziculare cauzată de viaţa sedentară, aport alimentar mai redus, motilitate diafragmatică diminuată, scăderea secreţiei de colecistokinină. La aceste cauze se asociază sporirea vâscozităţii bilei, prin micşorarea biliogenezei, prin hipercolesterolemie şi deficitul secreţiei de hormoni sexuali (1). Teoriile actuale consideră vezicula biliară ca având un rol de organ endocrin cu implicaţii în funcţionarea întregului organism (2). Rezistenţa la insulină ca veriga patogenică principală, poate induce numeroase modificări patologice (3).

MATERIAL ŞI METODĂ

În studiu am inclus 83 cazuri de litiază veziculară, cu diagnostic unic sau într-un context pluripatologic, internaţi în secţia de gastro-enterologie a Spitalului Judeţean de Urgenţă Bacău, în perioada ianuarie 2006 - aprilie 2007.

Diagnosticul pozitiv a fost stabilit pe baza următoarelor date:

1) clinic - toţi bolnavii din studiu au prezentat simptomatologie specifică suferinţei veziculare (dureri în hipocondrul drept, sindrom dispeptic biliar); febra a fost prezentă la internare la 21 (25,3%) de bolnavi, iar subfebrilitate la 18 (21,7%).

Examenul fizic a obiectivat - dureri la palparea hipocondrului drept, manevra Murphy pozitivă, cu icter sau subicter tegumentar.

2) paraclinic - diagnosticul a fost confirmat de ecografia abdominală care a evidenţiat prezenţa calculilor în vezicula biliară. Ca explorări suplimentare s-au utilizat: radiografia abdominală pe gol, C.T. abdominal (în cazurile în care a existat suspiciunea unei suferinţe pancreatice concomitente); hemoleucograma şi sindromul biologic de inflamaţie (VSH, fibrinogen), testele hepatice de citoliză (TGO, TGP), colestaza (bilirubina directă, indirectă, totală). Explorarea funcţiei hepatice a urmărit descoperirea unei eventuale hepatopatii cronice (virale sau etanolice) preexistente sau asociate colelitiazei.

În scopul excluderii/descoperirii altei patologii asociate la nivel digestiv s-a efectuat examen baritat gastroduodenal la 54 (65,1%) şi endoscopie digestivă superioară la 31 (37,3%) de pacienţi.

La bolnavii propuşi pentru tratament chirurgical s-a realizat: examenul aparatului respirator, cardiovascular (radiografie toracică, ECG, ecocardiografie) şi stabilirea profilului lipidic şi glucidic.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Am luat în studiu 83 bolnavi dintre care 58 sunt femei (69,8%) şi 25 bărbaţi (30,2%), cu un raport F/B: 2,32/1 (fig. 1).

Repartiţia pe medii a evidenţiat originea în urban a 51 cazuri (61,4%) şi rural, 32 (38,6%), cu nivel educaţional de la studii elementare până la cele superioare (fig. 2).

Anamneza medicală a evidenţiat în antecedentele eredocolaterale prezenţa litiazei veziculare (16,5%) şi dislipidemiilor (32,4%) şi, în variate proporţii, HTAE stadiul I şi II, ulcer gastro-duodenal, litiază renală uni şi/sau bilaterală, obezitate.

Acest polimorfism patologic depistabil prin investigaţii clinice, de laborator şi imagistice, realizate în acţiuni de prevenţie primară şi secundară, poate favoriza stabilirea unui diagnostic precoce, cu implicaţii favorabile, medicale şi social-economice.

Din lotul de 83 bolnavi spitalizaţi, 69,8% femei şi 30,2% bărbaţi, au predominat cei din grupul de vârstă 50-59 ani (41,3%) la femei şi 40-49 ani (52,0%) la bărbaţi. Este evidentă o prevalenţă ridicată la femeile în

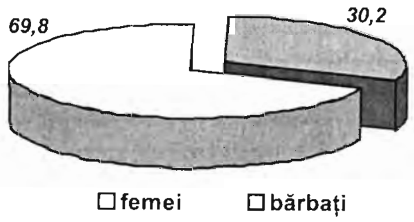


Fig. 1. Repartiţia pe sex

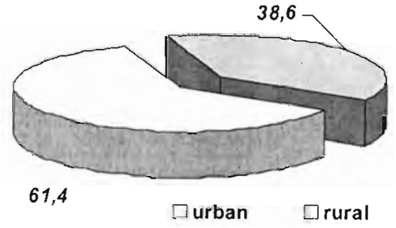


Fig. 2. Structura pe medii

TABELUL I

Structura pe grupuri de vârstă

Sex	Nr.	%	Grupul de vârstă (ani)							
			40-49		50-59		60-69		?70	
			Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
F	58	69,8	17	29,3	24	41,3	9	15,5	8	13,9
M	25	30,2	13	52,0	8	32,0	3	12,0	1	4,0

TABELUL II

Distribuţia în raport cu indicele de masă corporală

Sex	Nr.	%	IMC (Kg/m^2)							
			20-24,9		25-29,9		30-34,9		? 35	
			Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
F	58	69,8	5	8,62	18	31,0	28	48,2	7	12,2
M	25	30,2	4	16,0	12	48,0	7	28,0	2	8,0

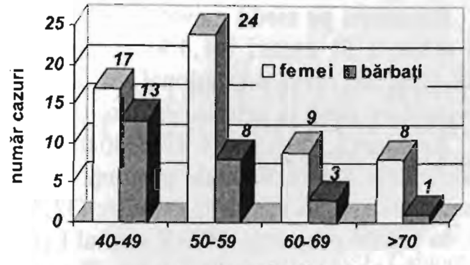


Fig. 3. Structura pe grupuri de vârstă

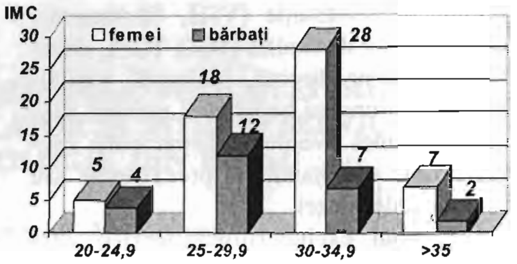


Fig. 4. Structura lotului de 83 bolnavi spitalizaţi, în relaţie cu indicele de masă corporală

TABELUL III

Caracteristicile lotului studiat în relaţie cu tipurile de dislipidemie

Sex	Nr.	%	HLP I		HLP IIa		HLP IIb		HLP III		HLP IV	
			Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
F	58	69,8	5	8,6	14	24,1	32	56,7	6	10,3	1	0,2
B	25	30,2	3	12,0	13	52,0	6	24,0	1	4,0	2	8,0

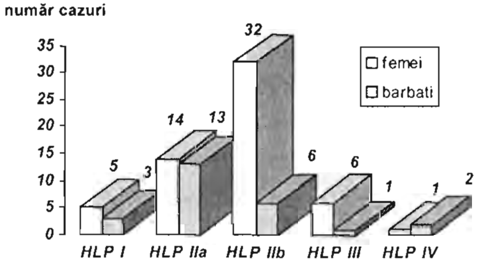


Fig. 5. Repartiţia lotului studiat după tipurile de dislipidemie

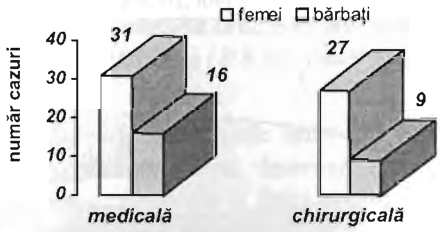


Fig. 6. Reprezentarea raportului între terapia medicală şi cea chirurgicală

TABELUL IV

Evaluări asupra utilizării terapiei medicale sau chirurgicale

Sex	Nr.	%	Terapie			
			medicală		chirurgicală	
			Nr.	%	Nr.	%
F	58	69,8	31	53,4	27	46,5
B	25	30,2	16	64,0	9	36,0

vârstă de până la 59 ani (70,6%), iar la bărbaţi, aceasta a fost de 80,4%, diferenţa fiind nesemnificativă (p ? 0,05) (tab. I, fig. 3).

Evaluând repartiţia celor 83 bolnavi spitalizaţi, în raport de mărimea indicelui de masă corporală (IMC), s-a observat că valorile acestuia, pentru femei, au fost cele mai ridicate (48,2%) în intervalul 30-34,9 iar la bărbaţi, în cel de 25-29,9 (48,0%) (tab. II, fig. 4).

Analiza particularităţilor dislipidemiei a evidenţiat prezenţa a 5 tipuri, pentru 58 (69,8%) la femei şi 25 (30,2%) la bărbaţi, cu repartiţie variată pe sex şi tipuri (tab. III, fig. 5).

Coroborând elementele clinice cu cele paraclinice, ne-am orientat spre o terapie medicală pentru 31 (53,4%) femei şi 16 (64,0%) bărbaţi, respectiv intervenţia chirurgicală s-a impus la 46,5% femei şi 36,0% bărbaţi (tab. IV, fig. 6).

TABELUL V

Distribuţia pe sex şi categoriile terapiei chirurgicale

Sex	Nr.	%	Terapie chirurgicală			
			clasică		laparoscopică	
			Nr.	%	Nr.	%
F	58	69,8	16	59,2	11	40,7
B	25	30,2	2	22,2	7	77,8

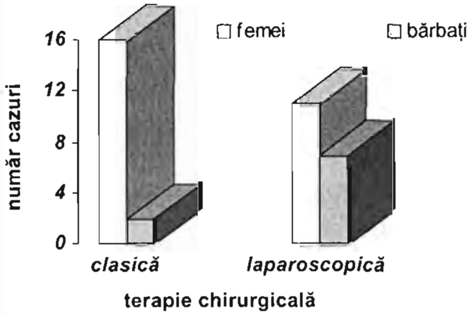


Fig. 7. Repartiţia pe sex şi categoria terapiei chirurgicale

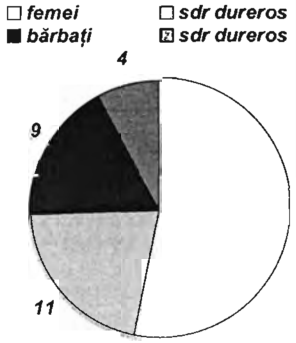


Fig. 8. Prevalenţa sindromului dureros la 36 pacienţi care au beneficiat de colecistectomie

TABELUL VI

Prevalenţa apariţiei sindromului dureros la pacienţii care au beneficiat de colecistectomie

Sex	Nr.	%	Sindromul dureros post-colecistectomie	
			Nr.	%
F	27	75	11	40,7
B	9	25	4	44,4

În ceea ce priveşte terapia chirurgicală, a fost necesară orientarea spre metodele clasice pentru 16 (59,2%) femei şi 2 (22,2%) bărbaţi, iar cele laparoscopice pentru 11 (40,7%) femei şi 7 (77,8%) bărbaţi (tab. V, fig. 7).

Supravegherea post-colecistectomie a 36 bolnavi a surprins existenţa unui sindrom dureros la 27 (75,0%) cazuri din care 11 (40,7%) femei şi 4 (44,4%) bărbaţi (tab. VI, fig. 8).

Deci, din lotul de 83 bolnavi spitalizaţi, 36 (43,4%) au beneficiat de colecistectomie clasică şi/sau laparoscopică, iar 27 (75,0%) dintre aceştia au necesitat şi o terapie antialgică postoperatorie.

CONCLUZII

Patologia colectistică a fost diagnosticată mai frecvent la femei aflate în decada de vârstă 50-59, iar la bărbaţi la 40-49 ani. Cele mai multe cazuri luate în studiu au fost femei cu indice de masă corporală între 30 şi 34,9 şi cu dislipidemie tip HLP IIb. Rezolvarea chirurgicală clasică s-a impus îndeosebi la femei, din cauza frecvenţei complicaţiilor, dar sindromul dureros post-colecistectomie a avut valori de prevalenţă aproape egale.

BIBLIOGRAFIE

1. Dumitraşcu D, Acalovschi M, Grigorescu M. *Litiaza biliară*. Bucureşti: Ed. Academiei Române, 1989.
2. Hurjui J, Băbeanu S, Filimon O, Gavrilescu CM. Alimentaţia - element esenţial pentru longevitate. *Rom J Gerontol Geriatr* 1999; 21 (1-2): 36.
3. Hăulică I, Neamţu C. Fiziologia aparatului digestiv. În: Haulică I editor. *Fiziologie umană*. ed. a II-a. Bucureşti: Ed. Medicală, 1999, 574-583.
4. Stoica V. Litiaza biliară. În: Gherasim L editor. *Tratat de medicină internă*,. vol III. Bucureşti: Ed. Medicală, 2001, 1091-1117.

NOUTĂŢI

PERSISTENŢA REZERVOARELOR BACTERIENE EXTRACREVICULARE DUPĂ TRATAMENTUL PARODONTITELOR AGRESIVE

Etiologia parodontitelor agresive rămâne un subiect de controversă iar tratamentul acestei patologii este dificil şi frecvent ineficient pe termen lung. Scopul acestui studiu a fost testarea ipotezei conform căreia patogenii parodontali asociaţi cu parodontitele agresive persistă şi se localizează extracrevicular după tratament tradiţional constând din detartraj şi surfasaj radicular, antibioterapie sistemică şi clătiri orale cu soluţii antiseptice. Lotul de studiu a cuprins 18 pacienţi cu parodontite agresive. Iniţial pacienţii au fost examinaţi clinic şi au fost recoltate eşantioane de placă bacteriană subgingivală şi celule epiteliale orale. Tratamentele au constat din detartraje şi surfasaje radiculeare, administrare sistemică de antibiotice şi clătiri cu ape de gură cu clorhexidină. Evaluările clinice şi recoltarea de eşantioane s-au repretat după trei, respectiv şase luni. S-au realizat determinări cantitative pentru *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* şi *Treponema denticola* din placa bacteriană şi s-a stabilit gradul de invazie intracelulară la nivelul celulelor epiteliale prin microscopie confocală şi hibridizare fluorescentă in situ. După tratament s-a observat ameliorarea semnificativă a indicilor clinici. După trei luni de la tratament, toate speciile bacteriene au fost semnificativ reduse în placa bacteriană cu excepţia *Porphyromonas gingivalis*. Totuşi, în următoarea perioadă, între 3 luni şi 6 luni de la tratament, toate speciile bacteriene evaluate au prezentat tendinţa de a repopula spaţiul subgingival. Această creştere a fost statistic semnificativă pentru *Treponema denticola*. Toate aceste specii bacteriene au fost detectate intracelular iar procentul celulelor epiteliale infectate nu a fost influenţat de terapie. Tendinţa de creştere a bacteriilor plăcii, întregistrată în cele şase luni, sugerează că în această perioadă are loc o recolonizare subgingivală. Deoarece prezenţa acestor specii în celulele epiteliale nu a fost influenţată de tratament, pare probabil ca sursa recolonizării să fie reprezentată chiar de mucoasa orală. Administrarea sistemică de antibiotice şi locală de clorhexidină nu a redus proporţia celulelor epiteliale invadate de patogeni. Aceste rezultate par să explice atât recidivele cât şi formele de parodontită refractare la tratament care apar la unii pacienţi, prin existenţa rezervoarelor bacteriene prezente în afara spaţiului crevicular gingival (Johnson JD, Chen R, Lenton PA, Zhang G, Hinrichs JE, Rudney JD. Persistence of extracrevicular bacterial reservoirs after treatment of aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2008; 79(12): 2305-2312).

Gianina Iovan

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **ARTICOLE ORIGINALE**

STUDIU CLINIC ASUPRA CAZURILOR DE DEPENDENŢĂ LA BENZODIAZEPINE SPITALIZATE ÎN PERIOADA 2006 - 2008

A.O. Străulea, V. Chiriţă
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Spitalul Clinic de Psihiatrie "Socola" Iaşi
Disciplina de Psihiatrie

CLINICAL STUDY ON THE CASES OF BENZODIAZEPINES DEPENDENCE HOSPITALISED BETWEEN 2006 - 2008 (Abstract): The authors present the result of retroprospective clinical diagnosis on benzodiazepines dependence hospitalised in the Drug-Dependence Clinic from the Clinical Hospital of Psychiatry „Socola" Iaşi between January 2006 - September 2008. **Material and method**: The study included a number of 49 pacients. **Results**: The present article consists of data covering current issues in the area of benzodiazepine side effects. The most frequent clinical manifestations were depression (62.5%), anxiety (52%), perspiration (43%), insomnia (31%), cognitive symptoms (25.2%). **Key words**: BENZODIAZEPINES, BENZODIAZEPINES DEPENDENCE, CLINICAL MANIFESTATIONS, DIAGNOSIS

Benzodiazepinele reprezintă o clasă largă de medicamente fiind considerate, prin proprietăţile lor terapeutice drept "tranchilizante minore". În practica medicală, benzodiazepinele sunt indicate în principal în tratamentul stărilor anxioase (1). Sunt de asemenea folosite ca sedative şi medicamente pre-anestezice (2). Datorită efectelor anticonvulsivante, benzodiazepinele sunt prescrise adesea în sindroamele de sevraj apărute în urma tratamentului alcoolo-dependenţei pentru a preveni apariţia simptomelor care ar putea pune în pericol viaţa pacientului (3). De-a lungul timpului, benzodiazepinele şi-au dovedit eficacitatea pe termen scurt în tratamentul multor tulburări psihice incluzând insomnia (4), fobia socială (5), tulburarea bipolară tip I şi atacurile de panică (6).

Administrate în cantităţi mari şi o perioadă îndelungată, benzodiazepinele induc toleranţă şi dependenţă fizică printr-un mecanism ce poate fi explicat prin atenuarea efectelor de stimulare GABA-ergică care induce un influx mai lent de ioni Cl decât cel determinat de stimularea GABA-ergică dinaintea administrării de benzodiazepine. Modalităţile după care se dezvoltă abuzul, toleranţa şi dependenţa sunt diferite de la o persoană la alta (7).

Dependenţa la benzodiazepine este în relaţie directă cu timpul de administrare şi mărimea dozei. Pe lîngă dependenţa psihică dată de efectele de relaxare şi dezinhibiţie, benzodiazepinele induc şi o dependenţă fizică, întreruperea bruscă a administrării acestora favorizînd apariţia manifestărilor de sevraj, manifestate prin insomnie, cefalee, anxietate, mialgii, tensiune musculară, nervozitate, sudoraţie, diaree. În cazuri severe au fost semnalate fenomene de depersonalizare, parestezii, hiperacuzie, halucinaţii, convulsii (8,9). După întreruperea tratamentului pot să apară fenomene de rebound tranzitorii, manifestate prin exacerbarea anxietăţii. În cazul întreruperii tratamentului, dozele trebuie să se reducă progresiv (pe durată de la câteva zile la câteva săptămâni), diminuându-se astfel posibilitatea apariţiei fenomenului de dependenţă.

MATERIAL ŞI METODĂ

Scopul studiului a constat în analiza cazurilor noi de dependenţă la benzodiazepine, care au fost spitalizate în Secţia Clinică Drogodependenţă a Spitalului Clinic de Psihiatrie Socola Iaşi în perioada ianuarie 2006 - septembrie 2008. Lucrarea are drept scop evidenţierea aspectelor clinice - somatice şi psihice - predominante ca frecvenţă şi gravitate în tabloul clinic şi evoluţia cazurilor studiate.

Studiul a fost efectuat pe un lot pe 49 de pacienţi de ambele sexe cu dependenţă la benzodiazepine, ca prim diagnostic, în asociere sau nu cu alte medicamente sau substanţe psihoactive.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Analiza cazurilor investigate privind distribuţia pe sexe relevă o preponderenţă a sexului feminin: 19 cazuri de sex masculin (38,8%) şi 30 de sex feminin (61,2%). Monitorizarea în timp a cazurilor noi cu dependenţă la benzodiazepine, internate în perioada ianuarie 2006 - septembrie 2008 indică o tendinţă descrescătoare a internărilor.

Distribuţia pe grupe de vârstă a fost evaluată la data primei investigaţii şi se prezintă astfel: vârsta medie a pacienţilor la intrarea în studiu a fost de 47,1 ± 9,04 ani, variind între 20 şi 66 ani, în concordanţă cu datele din literatura de specialitate (10).

Pe sexe, vârsta medie a cazurilor de sex feminin a fost de 46,91 ani cu variaţii de la 22 la 60 ani, iar la sexul masculin vârsta medie a fost de 47,5 cu variaţii de la 20 la 66 ani. Între cele două sexe nu se înregistrează diferenţe semnificative din punct de vedere statistic pe grupe de vârstă ($p > 0{,}05$).

Distribuţia cazurilor în funcţie de mediul de provenienţă al pacienţilor relevă predominanţa acestora din mediul urban (77%), comparativ cu mediul rural.

Consumul de medicamente recunoscut de pacienţi evidenţiază următoarele aspecte:

• consumul actual de benzodiazepine precizează o gamă variată de substanţe:

- Alprazolam - 35%;
- Bromazepam - 5,2%;
- Diazepam - 43,5%;
- Nitrazepam - 11,5%;
- Stilnox - 4,3%;

• într-un număr de 12 cazuri (23%) consumul de benzodiazepine a fost asociat cu consumul de alcool, prin aceasta urmărindu-se diminuarea anxietăţii induse de consumul de băuturi alcoolice (3).

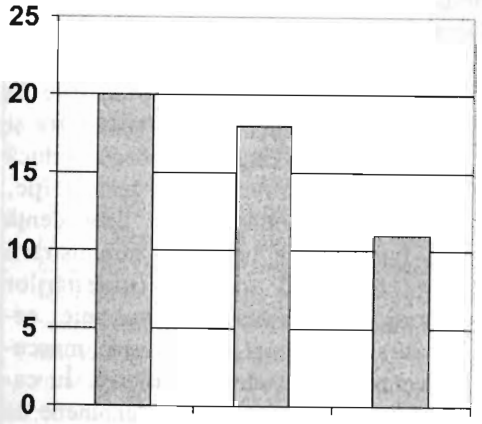


Fig. 1. Număr de cazuri cu dependenţă la benzodiazepine în perioada 2006-2008

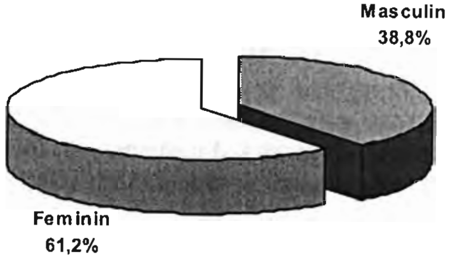


Fig. 2. Distribuţia pe sexe a cazurilor cu dependenţă la benzodiazepine

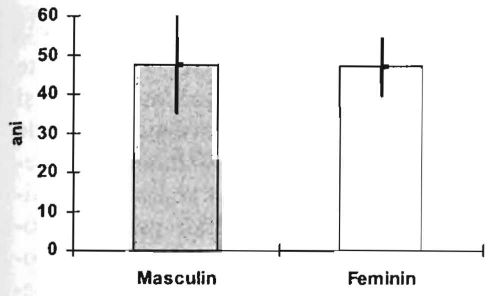


Fig. 3. Valorii medii ale vârstei pacienţilor la intrarea în studiu

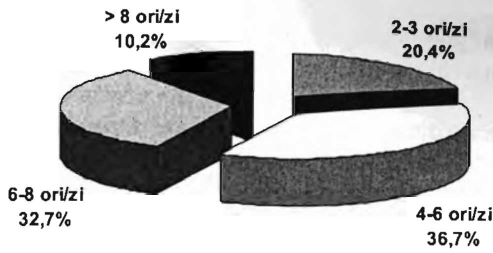


Fig. 4. Distribuţia cazurilor în funcţie de cantitatea de benzodiazepine administrată zilnic raportată la doza medie recomandată pe zi

Toţi pacienţii incluşi în studiu consumau doze crescute de benzodiazepine zilnic faţă de doza medie recomandată pe zi. Astfel, doza de medicamente administrată pe zi variază de la 2-3 ori doza medie zilnică în proporţie de 20,4% din cazuri, până la peste 8 ori DMZ în proporţie de 10,2% dintre pacienţii luaţi în studiu. Un procent de 36,7% dintre cazuri consumă benzodiazepine de 4-6 ori DMZ, iar 32,7% o cantitatea de 6-8 ori mai mare decât DMZ recomandată.

Pe durata spitalizării s-au evidenţiat următoarele simptome, predominate de anxietate (52%), transpiraţii (43%) şi insomnii (31%). Celelalte simptome prezente au fost:

- spasme musculare (25%);
- agitaţie psiho-motorie (21%);
- tremor (21%);
- piloerecţie (11%);
- hipotensiune (7%);
- diaree (5%).

Ca tulburări psihice survenite în urma încetării consumului de benzodiazepine se constată o frecvenţă crescută a simptoma-

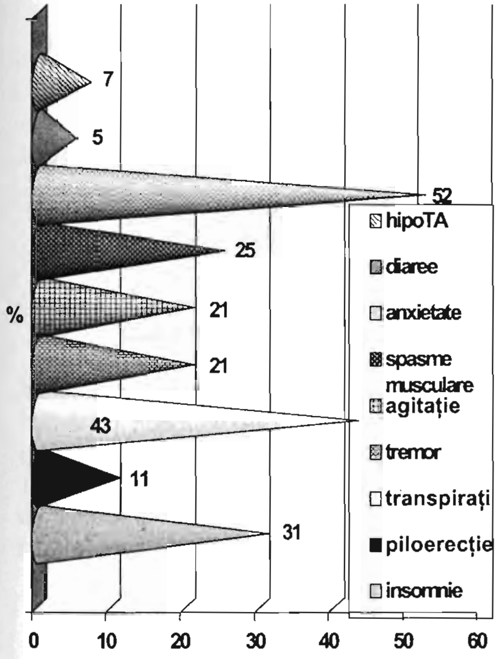


Fig. 5. Simptome la pacienţii cu dependenţă la benzodiazepine în cursul spitalizării

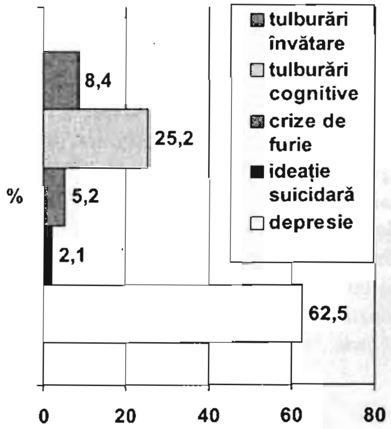


Fig. 6. Distribuţia pacienţilor cu dependenţă la benzodiazepine în funcţie de simptomele apărute la oprirea consumului de medicamente

tologiei depresive, urmată de prezenţa tulburărilor cognitive. Incidenţa simptomelor psihice apărute la întreruperea consumului de medicamente la pacienţii cu dependenţă la benzodiazepine se prezintă astfel:

- depresie (62,5%);
- tulburări cognitive (25,2%);
- tulburări de învăţare (8,4%);
- crize de furie (5,2%);
- ideaţie suicidară (2,1%).

CONCLUZII

Evaluarea rezultatelor obţinute din studiul efectuat pe lotul de cercetare de 49 de pacienţi cu dependenţă la benzodiazepine spitalizaţi în Secţia Clinică Drogodependenţă a Spitalului Clinic de Psihiatrie "Socola" Iaşi în perioada ianuarie 2006 – septembrie 2008 relevă o serie de aspecte semnificative care subliniază importanţa şi gravitatea consumului şi a dependenţei de substanţe psihoactive. Cu referire la dependenţa benzodiazepinică se constată incidenţa crescută a tulburărilor psihice datorate atât consumului prelungit, cât şi fenomenului de sevraj. Asocierea benzodiazepinelor cu alcool sau cu alte substanţe psihoactive creşte riscul dependenţei, precum şi al gravităţii simptomatologiei de sevraj. Analiza datelor clinice arată frecvenţa crescută a manifestărilor psihopatologice predominată de depresie (62,5%), anxietate (52%), transpiraţii (43%), insomnii (31%), tulburări cognitive (25,2%).

BIBLIOGRAFIE

1. Mant A, Mattick RP, deBurgh S, Donnelly N, Hall W. Benzodiazepine prescribing in general practice: dispelling some myths. *Fam Pract* 1995; 12 (1): 37-43.
2. Moller HJ. Effectiveness and safety of benzodiazepines. *J Clin Psychopharmacol* 1999; 19 (6 Suppl. 2): 2S-11S.
3. Hester RK, Miller WR. *Handbook of Alcoholism Treatment Approaches*. New York: Pergamon Press. 1989, 231-241.
4. Longo LP, Johnson B. Addiction: Part I. Benzodiazepines—side effects, abuse risk and alternatives. *Am Fam Physician* 2000; 61 (7): 2121-2128.
5. Stein MB. *Social Phobia: Clinical and Research Perspectives*. Washington DC: American Psychiatric Press, 1995.
6. Gould RA, Otto MW, Pollack MH. *Clin Psychol Rev* 1995; 15: 819-844.
7. Stephens DN, Turski L. Adaptive changes to chronic treatment with ligands for benzodiazepine receptors: inverse agonists and tolerance to agonists. In: *Benzodiazepine Receptor Inverse Agonists*. 1995, 83-112.
8. Ashton H. Benzodiazepine Dependency. In: Bauman A, Newman S et al. editors. *Cambridge Handbook of Psychology & Medicine*. Cambridge University Press, 1997, 376-380.
9. Chiriţă V, Papari A. *Tratat de Pshiatrie*. Constanţa: Ed. Fundaţiei "Andrei Şaguna", 2002.
10. Baiter MB, Ban TA, Uhlenhuth EH. International study of expert judgement on therapeutic use of benzodiazepines and other psychotherapeutic medications: I. Current concerns. *Human Psychopharmacol* 1993: 8: 253-261.

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

ARTICOLE ORIGINALE

PARTICULARITĂŢI EVOLUTIVE ŞI TERAPEUTICE ALE BOLII HODGKIN LA COPILUL MIC

Irina Efrosă[1,2], Ingrid Miron[2], I. Tansanu[2]
1. Centrul Medical "Providenţa" Iaşi
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Spitalul Clinic de Urgenţă pentru Copii "Sf. Maria" Iaşi
2. Secţia Hemato-Oncologie Pediatrică

EVOLUTIONARY AND THERAPEUTIC PARTICULARITIES OF HODGKIN DISEASE TO CHILDREN (Abstract): **Aim**: To investigate the incidence and evolution of Hogkin disease to children under 5 years age. **Material and method**: The patients have been investigate to Pediatric Hemato-Oncologic Department from Clinical and Emergencies Hospital for Children „Sf. Maria" Iaşi in a period between January 1980 and December 2004. In this period 129 patients with Hogkin disease have been hospitalised, and among these 48 patients was under 5 years age (37.20%). **Results**: From our patients 41 were boys (85.41%) respectively 7 girls (14.59%). Anatomopathologic examination of samples from affected ganglions indicate: 7 patients with lymphocyte prevalence (14.58%), 6 with nodular sclerosis (12.50%), 31 with mixed cellularity (64.58%) and 4 patients with lymphoid depletion (8.34%). Ann-Arbor clasification of disease indicate a high incidence of stage II (27 cases - 56.25%) in the beginning period than stage I (15 cases - 31.25%), III (3 cases - 6.25%) and IV (3 cases - 6.25%). In 9 cases (18.75%) biochemical syndrome has been observed. Radiotherapy (35 cases - 72.91%) and chemotherapy (27.09%) have been used. Failure Free Survival after 5 years for patients with lymphocyte prevalence was 96% for stage I A and II A, 48% for stage III respectively 18% for stage IV. Complications observed were: precocious - medullary toxicity (3 cases), metabolic disorders (4 cases), and late – lung fibrosis with restrictive respiratory dysfunction (2 cases), cardiac dysfunctions (1 case). **Key words**: HODGKIN DISEASE, HISTOLOGY, CHILDREN

Boala Hodgkin reprezintă a treia malignitate ca frecvenţă în populaţia pediatrică. Incidenţa maximă conform datelor din literatura de specialitate se situează între 10 şi 15 ani, fiind rară sub vârsta de 5 ani. Rata de supravieţuire la 5 ani atinge 95-98% (1,2,3,4,5).

MATERIAL ŞI METODĂ

Studiul s-a derulat în Secţia Hematologie-Oncologie Pediatrică a Spitalului Clinic de Urgenţă pentru Copii "Sf. Maria" Iaşi, în perioada ianuarie 1980 - decembrie 2004 şi a cuprins un număr de 48 de pacienţi, cu vârsta sub 5 ani, din totalul de 129 de cazuri cu limfom Hodgkin diagnosticate şi urmărite în această secţie.

S-au evaluat: modul de debut, prezenţa semnelor sistemice, tipul histologic, încadrarea stadială şi în grupa de risc, tratamentul, evoluţia şi apariţia complicaţiilor post radio- şi chimioterapie.

După examinarea clinică, toţi pacienţii au fost supuşi evaluării paraclinice iniţiale (hemoleucograma, grupa sanguină, bilanţul hemostazei, VSH, LDH, bilanţul metabolic sanguin - uree, acid uric, creatinină, ionogramă, glicemie ; probe hepatice - TGP, TGO, proteine totale, electroforeză ; fosfataza alcalină, diureza, pH şi densitate urinară, ionograma urinară, radiografie toracică postero-anterioară şi profil, ecografie abdominală, EKG, tensiune arterială) completată de explorări paraclinice ţintite pentru diagnosticul de certitudine (examenul anatomo-patologic al biopsiei ganglionare) şi pentru stabilirea extinderii bolii (tomografie axială computerizată pentru gât, torace, abdomen, RMN pentru schelet, analiza aspiratului medular).

Stadializarea bolii a fost efectuată conform clasificării Ann-Arbor modificate, iar stadializarea clinică, după prezenţa sau absenţa semnelor sistemice (scăderea în greutate cu mai mult de 10% în ultimele 6 luni, febra >38°C recurentă, neexplicată, transpiraţii nocturne) (1).

Tratamentele utilizate, chimioterapie sau radiochimioterapie, au fost adaptate stadiului bolii şi grupei de risc şi în concordanţă cu protocoalele standardizate ale etapelor respective (COPP sau MOPP până în 1991, ulterior fiind aplicate ABVD şi OPPA, precum şi cura ICE de linia a II-a) (1).

Supravegherea eficienţei tratamentului şi monitorizarea evoluţiei bolii au fost efectuate continuu prin metode imagistice şi de laborator. Recidivele au fost obiectivate prin repetarea biopsiei şi confirmare anatomo-patologică.

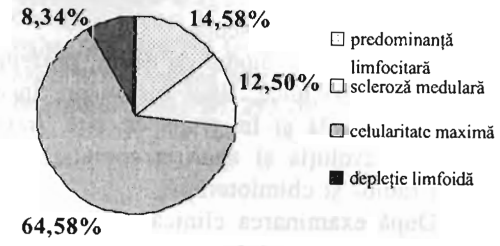


Fig. 2. Repartiţia cazurilor în funcţie de caracteristicile histologice

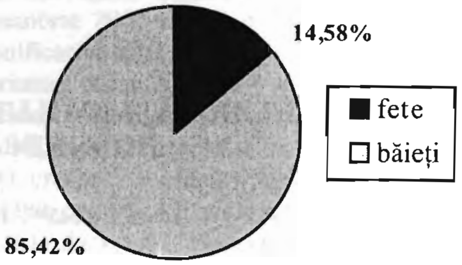


Fig. 1. Repartiţia pe sexe a cazurilor de boală Hogkin

REZULTATE

Diagnosticul de certitudine a fost stabilit în urma examenului anatomo-patologic al biopsiilor prelevate din ganglionii afectaţi.

Lotul de 48 de pacienţi cu vârsta sub 5 ani, aflat în studiu a reprezentat 37% din totalul de 129 de cazuri cu boala Hodgkin aflate în evidenţă în clinică.

Repartiţia pe sexe (fig. 1) a relevat un raport băieţi/fete de 41/7 (băieţi - 85,42% şi fete - 14,58%).

Din punct de vedere histologic, s-au identificat 7 cazuri (14,58%) cu predominanţă limfocitară (PL), 6 cazuri (12,50%) cu scleroză nodulară (SN), 31 cazuri (64,58%) cu celularitate mixtă (CM), 4 cazuri (8,34%) cu depleţie limfoidă (DL) (fig. 2).

Stadializarea bolii (clasificarea Ann-Arbor) la pacienţii cu boala Hodgkin, cu vârsta sub 5 ani a relevat incidenţa mare la debut a stadiului II (27 cazuri - 56,25%) faţă de stadiile I (15 cazuri - 31,25%), III (3 cazuri - 6,25%) şi IV (3 cazuri - 6,25%) (fig. 3).

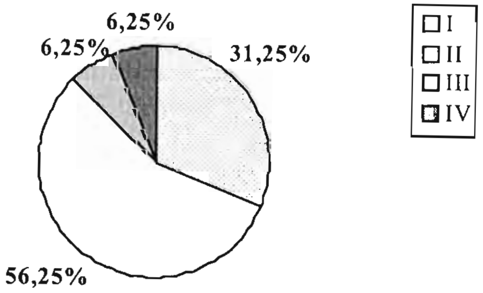


Fig. 3. Repartiţia cazurilor în funcţie de stadializarea bolii (clasificarea Ann-Arbor)

Stadializarea clinică a evidenţiat absenţa semnelor sistemice la debut (stadiul A) la majoritatea pacienţilor (39 de cazuri - 81,25%).

În funcţie de prezenţa sau absenţa sindromului biochimic, 39 de cazuri (81,25%) au fost în categoria a, iar 9 cazuri (18,75%), în categoria b.

Din punct de vedere al localizării, s-a remarcat debutul bolii predominant la nivelul ganglionilor cervicali (92%).

Corelaţia între histologia şi localizarea bolii Hodgkin a relevat o incidenţă crescută a tipului histologic cu CM la toate localizările (tab. I).

Tratamentele utilizate, chimioterapie - 35 de cazuri (72,91%) sau radio-chimioterapie - 13 cazuri (27,09%), au fost adaptate stadiului bolii şi grupei de risc. Schemele chimioterapice utilizate au fost : MOPP, ABVD, MOPPABV hibrid.

Aprecierea supravieţuirii la 3 ani de evoluţie după diagnostic (FFS- Failure Free Survival), pentru Boala Hodgkin la copilul sub 5 ani, în corelaţie cu evenimentele morbide ce pot surveni (recidivă, complicaţii precoce sau tardive, deces), a relevat :

- Tipul histologic cu predominanţă limfocitară este un factor de prognostic favorabil comparativ cu tipurile cu scleroză nodulară şi celularitate mixtă, dar mai ales cu tipul cu depleţie limfoidă (6). Nu sunt diferenţe statistice între formele cu scleroză nodulară şi cele cu celularitate mixtă ;
- Stadiile I şi II de boală, fără prezenţa semnelor sistemice, reprezintă factori de prognostic favorabil cu o supravieţuire de 96% la 60 de luni faţă de Stadiul III cu supravieţuire de 48% la 60 de luni şi Stadiul IV cu supravieţuire de 18% la 60 de luni. Diferenţele de supravieţuire între stadiile clinice sunt statistic semnificative ($p<0,05$) conferindu-i acestui parametru valoare de factor de prognostic ;
- Localizarea primară a bolii la una sau două grupe ganglionare, cu excepţia ganglionilor hilari şi a masei mediastinale, reprezintă factori de prognostic favorabil (FFS de 94% comparativ cu 48 % pentru Stadiul III B şi IV).

Din punct de vedere al evoluţiei pe termen scurt, au fost identificate un număr de 38 de cazuri (79%) care au intrat în remisiune, 3 cazuri nu au prezentat remisiune, iar 7 cazuri s-au pierdut din evidenţă. Menţionăm că cele 3 cazuri au prezentat întreruperi ale tratamentului, prin noncomplianţa familiei.

În ce priveşte evoluţia pe termen lung, 20 de cazuri nu au prezentat recădere, 15 cazuri au prezentat recăderi precoce (5 cazuri), respectiv tardive (10 cazuri), 13 cazuri fiind pierdute din evidenţă.

Au fost identificate următoarele complicaţii precoce (toxicitate medulară - 3 cazuri, TBC pulmonară - 3 cazuri, complicaţii metabolice - 4 cazuri) şi tardive (fibroză pulmonară cu disfuncţie respiratorie restrictivă - 2 cazuri şi disfuncţii cardiace - 1 caz). Funcţionalitatea cordului a fost urmărită prin examen ecocardiografic, iar probele funcţionale respiratorii prin spirometrie.

De remarcat este faptul că nu s-a înregistrat nici un deces, cu menţiunea că s-au exclus din lot cazurile pierdute din evidenţă (16 cazuri).

DISCUŢII

În urma studiului, s-a constatat incidenţă crescută a afecţiunii la sexul masculin (85,41%) pentru lotul studiat comparativ cu 66% în lotul total de 129 de cazuri aflat în evidenţa clinicii în perioada derulării cercetării.

Din punct de vedere al vârstei de debut, s-a constatat o incidenţă crescută la categoria de vârstă sub 5 ani (37,20% din totalul de 129 cazuri aflate în evidenţa clinicii în perioada derulării studiului), contrar datelor din literatură, în care se specifică incidenţa scăzută la vârstele mici.

Încadrarea pacienţilor în grupe de risc şi identificarea factorilor prognostici, au oferit şansa terapiei multimodale, astfel încât prognosticul global, astăzi, depăşeşte 96% pentru supravieţuirea la 5 ani în cazul stadiilor I şi II. Pentru stadiile III B şi IV supravieţuirea la 5 ani a fost de 48%.

CONCLUZII

Incidenţa Bolii Hodgkin la vârste sub 5 ani (37,20%) a fost net superioară datelor raportate de alţi clinicieni.

Studiul a confirmat rata înaltă de supravieţuire înregistrată în literature de specialitate, rezultat datorat aplicării aceloraşi scheme terapeutice.

Cauzele nereuşitei au constat în noncomplianţa în respectarea secvenţelor terapiei, fiind de dorit consilierea psihologică a părinţilor.

Sechelele chimio- şi radioterapiei s-au datorat toxicităţii pulmonare a bleomicinei. Implicaţia lor în prognosticul la distanţă este, în mod previzibil, cu atât mai mare cu cât au apărut la o vârstă mai mică.

BIBLIOGRAFIE

1. Lanzkowsky Ph. *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*. 4th ed. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2005.
2. Aversa SM, Salvagno L, Soraru M et al. Stanford V regimen plus consolidative radiotherapy is an effective therapeutic program for bulky or advanced-stage Hodgkin's disease. *Acta Haematol* 2004; 112 (3): 141-147.
3. Pinkerton R, PlowmanPN, Pieters R. *Pediatric Oncology*. London: Arnold, 2004.
4. Olson MR., Donaldson SS. Treatment of Pediatric Hodgkin Lymphoma. *Curr Treat Op Oncol* 2008; 9: 81-94.
5. Mauz-Korholz C, Gorde-Grosjean S, Hasenclever D et al. Resection alone in 58 children with limited stage, lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma-experience from the European network group on pediatric Hodgkin lymphoma. *Cancer* 2007; 110 (1): 179-185.
6. Pellegrino B, Terrier-Lacombe MJ, Oberlin O et al. Lymphocyte-predominant Hodgkin's lymphoma in children: therapeutic abstention after initial lymphnode resection – a study of the French Society of Pediatric Oncology. *J Clin Oncol* 2003; 21 (15): 2948–2952.

NOUTĂŢI

RETENŢIA HIDROSALINĂ SE ASOCIAZĂ CU CREŞTEREA MORTALITĂŢII LA PACIENŢII CU HEMODIALIZĂ CRONICĂ

Pacienţii cu boală renală cronică în stadiul 5, aflaţi în programe de hemodializă cronică, sunt supuşi unui risc cardiovascular crescut. Perioada de urmărire a fost de 2 ani (iulie 2001 – iunie 2003), timp în care s-a evaluat mortalitatea cardiovasculară la 34107 pacienţi. Retenţia hidrosalină a fost apreciată în 8 trepte de câte 0,5 kg şi după analiza multivariată, ajustată în funcţie de sex, date demografice şi elementele complexului malnutriţie-inflamaţie, s-a constatat că fiecare treaptă de creştere în greutate prin retenţie hidrosalină a fost însoţită de o creştere a mortalităţii cardiovasculare şi de toate cauzele. Mecanismele de creştere a mortalităţii sunt asemănătoare cu cele întâlnite în insuficienţa cardiacă dar pentru identificarea tuturor componentelor sunt necesare studii suplimentare (Kalantar-Zadeh K, Regidor LA et al. Fluid retention is associated with cardiovascular mortality in patients undergoing long-term hemodialysis. *Circulation* 2009; 119: 671-679).

Corina Dima-Cozma

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi – 2009 – vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

CAZURI CLINICE

ACUTE IDIOPATHIC PANCREATITIS PRECEDING DIAGNOSIS OF CROHN'S DISEASE. DESCRIPTION OF THREE CASES

J.K. Triantafillidis[1], E. Merikas[1], G. Malgarinos[1], V. Panteris[1], G. Peros[2]
"Saint Panteleimon" General Hospital Nicea
1. Department of Gastroenterology
University of Athens
"Attikon" University Hospital Athens
2. 4th Department of Surgery

ACUTE IDIOPATHIC PANCREATITIS PRECEDING DIAGNOSIS OF CROHN'S DISEASE. DESCRIPTION OF THREE CASES (Abstract): Acute idiopathic pancreatitis seems to represent a rare extraintestinal manifestation of Crohn's disease usually appearing after the establishment of diagnosis of the intestinal disorder. The aim of this study was to describe the clinicoepidemiological characteristics and clinical course of three patients with Crohn's disease who developed acute idiopathic pancreatitis years before the establishment of diagnosis intestinal disease. **Description of cases**: All patients were suffering from Crohn's disease. In all patients, an extensive work-up aiming to identify an etiological factor involved in the pathogenesis of acute pancreatitis was negative. The main clinical characteristics of the patients were the young age, the mild or moderate degree of severity of pancreatitis, and the concurrent involvement of small and large bowel from Crohn's disease in two of them. There was no preference for either male or female sex. The course of pancreatitis was favorable in all patients. During the follow-up period, ranging from 2 to 8 years, no exacerbation of pancreatitis was noticed. **Conclusion**: This case-series suggests that acute idiopathic pancreatitis could precede diagnosis of Crohn's disease. Clinicians must bear in mind the possibility of the existence of Crohn's disease when they are confronting a young patient with clinical and laboratory features of acute idiopathic pancreatitis. **Key words**: PANCREATITIS, IDIOPATHIC PANCREATITIS, INFLAMMATORY BOWEL DISEASE, CROHN'S DISEASE, EXTRAINTESTINAL MANIFESTATIONS

Crohn's disease is a systemic disease, which does not have as a main target only the digestive tract. Several extraintestinal manifestations exist which in some cases could dominate the clinical picture. Among them acute and chronic pancreatitis represent a significant although quite rare manifestation.

Acute pancreatitis appearing in the course of Crohn's disease could be either idiopathic or secondary (1,2,3,4,5,6,7,8). The term "idiopathic" is referring to cases of acute pancreatitis in which no responsible factor could be identified. These cases are considered to be a real extraintestinal manifestation. The proportion of idiopathic cases fluctuates between 8 and 21% of the total number of acute pancreatitis in Crohn's disease patients, according to older and recent series descriptions (9,10).

Drugs responsible for the appearance of acute pancreatitis in patients with Crohn's disease include sulfasalazine (11), mesalazine (12), 6-mercaptopurine (13), azathioprine (14), metronidazole (15) and corticosteroids (16). Acute and chronic pancreatitis has also been linked with duodenal involvement from Crohn's disease (17,18,19) and total parenteral nutrition (20).

All the extraintestinal manifestations (including acute pancreatitis) described so far in patients with Crohn's disease usually appear concurrently or after the establishment of diagnosis of intestinal disease, although there are isolated case-reports describing cases in which acute pancreatitis preceded the diagnosis of the intestinal disease (21, 22,23).

The aim of this presentation is to describe a series of three cases of acute idiopathic pancreatitis appearing long before the establishment of diagnosis of Crohn's disease. An attempt to provide some information regarding the natural history of acute pancreatitis in these patients is also presented.

CASE REPORTS

During the years 1990 to 2008, among 327 patients with Crohn's disease, seen and followed-up in our referral center for inflammatory bowel disease, three developed acute pancreatitis before the establishment of diagnosis of Crohn's disease. Clinical details of these patients are presented herein.

Case 1 *:* A young male aged 20 yr was admitted to our department complaining of severe abdominal (mainly epigastric) pain, accompanied by vomiting and distress. Upper GI endoscopy performed immediately after admission revealed nothing important. However, abdominal ultrasound performed again at the same time of admission, disclosed an enlarged and edematous pancreas. Serum and urine amylase increased considerably (890 and 2800 IU respectively). An extensive work-up aiming to identify a possible cause for the acute pancreatitis, was negative. The course of pancreatitis was uneventful and the patient discharged 7 days after admission in good condition. Fifteen months later he started complaining of diarrhea (3-5 bowel movements per day), fatigue and loss of weight. Colonoscopy showed aphthous-like ulcers in the ileocecal area and a moderate degree of erythema and edema scattered throughout the large bowel. Histology revealed inflammatory infiltration of the lamina propria and granulomas in deep positions. Abdominal ultrasound and CT scan revealed a moderate degree of thickness of the terminal ileum. With the obvious diagnosis of Crohn's disease the patient was treated with metronidazole, mesalamine and prednizolone with good response. Family history revealed that his mother -aged 46- was also suffering from extensive ulcerative colitis since the age of 34 yr. During the 8 years of follow-up the patient had no signs of recurrence of pancreatitis. Crohn's disease was running with remissions and exacerbations of moderate severity.

Case 2 *:* A young girl, aged 17, developed an episode of acute pancreatitis at the age of 13. The diagnosis was based on the relevant clinical picture and the considerably increased levels of serum and urine amylase. Diagnosis was also supported by the relevant abdominal ultrasound, MRI and CT scan. Small bowel follow-through was unremarkable. Upper and lower GI endoscopy were normal. Other causes of pancreatitis were excluded with appropriate investigation. She was discharged with no symptoms and with normal serum and urine amylase. After more than one year, she started complaining of diarrhea, epigastric pain and vomiting. A diagnosis of small and large bowel Crohn's disease was made based on the findings of upper and lower GI endoscopy. Histology of the large bowel showed inflammatory infiltration with granulomas. Since then, she was managed with a combination of azathioprine and corticosteroids. A laparatomy was performed after two years because of several strictures in the small bowel. On operation she underwent a resection of a small part of the small bowel with end-to-end anastomosis. In order to avoid multiple small bowel resections, five strictureplasties were also performed. At the time of operation no laboratory or clinical signs of pancreatic inflammation were noticed. The patient 8 years after the onset of pancreatitis and almost 6 years after the establishment of diagnosis of Crohn's disease did not show any clinical or laboratory signs of recurrence of acute pancreatitis. She is currently under adalimumab maintenance treatment.

Case 3 *:* A man, aged 25, developed an episode of acute pancreatitis at the age of 22. Diagnosis was based on the relevant clinical picture and the increased serum and urine amylase levels and the compatible findings of abdominal ultrasound, MRI and CT scan. Other causes of pancreatitis were excluded by appropriate investigation. He was discharged with no symptoms although the levels of serum and urine amylase did not completely return to normal levels. After 2 years he was admitted again complaining this time of bloody diarrhea and anemia. Colonoscopy revealed multiple ulcers of various sizes of the mucosa of the terminal ileum as well as deep large ulcers in the ileocecal area. Inflammation of the mucosa in other segments of the transverse colon was also seen. Upper GI endoscopy was normal. Histology of the terminal ileum and colon revealed typical findings of active Crohn's disease. Immunohistochemistry aiming to detect the possible presence of cytomegalovirus was negative. Endoscopic ultrasound of the pancreas revealed nothing abnormal. The patient responded well to oral butezonide at a dose of 9mg per day. Three months later, the underlying Crohn's disease remains quiescent. However, despite the fact that the patient is completely asymptomatic with no abnormalities in the imaging of the pancreas, serum and urine amylase levels are above the normal limits

TABLE I

Clinicoepidemiological characteristics of patients with Crohn's disease who developed acute pancreatitis

Characteristic	Case 1	Case 2	Case 3
Age at the time of description	24	22	25
Age at diagnosis of acute pancreatitis	20	17	22
Age at diagnosis of Crohn's disease			25
Sex	Male	Female	Male
Location of disease			
small bowel	Yes		
ileocecal disease		Yes	Yes
Duration of Crohn's disease (years)	4	6	1
Positive family history	Mother: ulcerative colitis	No	No

TABLE II

Laboratory findings and course of acute pancreatitis

Parameter	Case 1	Case 2	Case 3
Serum amylase (NV<80IU)	890	680	1980
Urine amylase (NV: 200IU)	2,800	1,600	4,000
Conservative treatment of pancreatitis	Yes	Yes	Yes
Surgical intervention of Crohn's disease	No	Yes	No
Recurrence of pancreatitis during follow-up period	No	No	Continuously elevated levels of serum and urine amylase levels during the two years of follow-up

(188 and 1266 IU/L respectively) (N.V. 25-115 IU/L and <400 IU/L respectively).

Tables I and II summarize the clinicoepidemiological characteristics and clinical course of these patients.

DISCUSSION

In this study the clinicoepidemiological characteristics and the clinical course of three patients with acute idiopathic pancreatitis appearing long before the establishment of diagnosis of Crohn's disease were described. All patients were of young age. In none of them an established cause predisposing to the development of pancreatitis could be identified. In all patients the course of pancreatitis was benign with no recurrence appearing during the follow-up period.

Acute pancreatitis is a relatively common disease in the western world. Its incidence has been estimated to fluctuate between 35 and 45 new cases per 100,000 inhabitants per year (24,25,26). The proportion of men to women is 2 to 1 and the mean age of first appearance is 59 years.

Patients with chronic inflammatory bowel disease are considered to be at increased risk for development of acute pancreatitis. The estimated risk seems to be 4.3 times higher for Crohn's disease and 2.1 times higher for ulcerative colitis (27). So far, many case reports referring to the development of acute pancreatitis in Crohn's disease patients have been published. Most of them are consequence of drugs used in the treatment of the patients (28), while in others no association with known cause of pancreatitis could be identified. In the absence of drug use or duodenal involvement, pancreatitis appears in approximately 1.2% (29). Among 12 patients who developed clinically overt pancreatitis in a follow-up period of 10 years, only in two of them acute pancreatitis was probably consequence of drugs (5). Younger patients and those with active Crohn's disease seemed more at risk for developing acute pancreatitis.

Concerning the mechanisms involved in the pathogenesis of pancreatitis in our patients, we are not able to provide an obvious explanation. It is well known that apart of being consequence of drugs used in the treatment of Crohn's disease, the existence of duodeno-pancreatic duct fistulas or flow obstruction and reflux of duodenal content into the pancreatic duct could represent predisposing factors. It has been suggested that serum autoantibodies to acinar cells could play a role in the causation of pancreatitis in conjunction with immunological mechanisms and production of various cytokines including Tumor Necrosis Factor-alpha (30,31). It is well known that autoantibodies against exocrine pancreas occur in about 30% of Crohn's disease cases but not in other inflammatory diseases. Pancreatic autoantibody positive Crohn's disease patients might have a low grade inflammation of the pancreas which may be aggravated by the introduction of azathioprine, resulting in clinically overt acute pancreatitis. However, recent data do not support this assumption (32), although large, prospective studies are needed to definitely answer this question.

The clinical picture in most of the reported cases with idiopathic pancreatitis in Crohn's disease seems to be quite benign. No complications requiring surgical treatment has been described so far (33) and this is in accordance with the clinical course of our patients.

The management of a patient with Crohn's disease and acute idiopathic pancreatitis does not differ from the ordinary patient with acute pancreatitis. However, drugs with known harmful influence on the pancreas may well have to be excluded - at least temporarily - from treatment. In our patients we followed the classical treatment strategies including food restriction, liquid and electrolyte restoration, and close surveillance. Analgesics were necessary to administer in one patient. Nasogastric tube was placed also in one patient.

Concerning the clinical course of acute pancreatitis, it could be supported that no firm conclusions could be drawn because of the limited data available. It seems that the course of pancreatitis is quite favorable, as the rate of recurrence of pancreatitis has been reported as very low (5), although a rate of 21% of recurrence has been reported (33). Based on the data of our patients, we could assume that the natural history of pancreatitis is quite benign, as none of them developed recurrence of pancreatitis during the follow-up period. We must bear in mind however, that cases of evolution of pancreatic cystadenocarcinoma in patients with Crohn's disease and pancreatitis have been described (33,34).

CONCLUSION

Acute idiopathic pancreatitis may precede the diagnosis of Crohn's disease. Some cases of acute idiopathic pancreatitis in young patients might be considered as an early manifestation of an as-yet undiagnosed Crohn's disease. Clinicians must bear in mind the possibility of the existence of a not yet diagnosed Crohn's disease when confronting a young patient with clinical and laboratory features of acute idiopathic pancreatitis.

REFERENCES

1. Meyers S, Greenspan J, Greenstein AJ, Cohen BA, Janowitz HD: Pancreatitis coincident ileocolitis. Report of a case and review of the literature. *Dis Colon Rectum* 1987; 30: 119-122.
2. Matsumoto T, Matsui T, Iida M, Fujishima M. Acute pancreatitis as a complication of Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 1989; 84: 804-807.
3. Niemela S, Lehtola J, Karttunen T. Pancreatitis in patients with inflammatory bowel disease. *Hepatogastroenterol* 1989; 36: 175-177.
4. Tromm A, Huppe D, Micklefield GH, Schwegler U, May B. Acute pancreatitis complicating Crohn's disease: mere coincidence or causality? *Gut* 1992; 33: 1289-1291.
5. Weber P, Seibold F, Jenss H: Acute pancreatitis in Crohn's disease. *J Clin Gastroenterol* 1993; 17: 286-291.
6. Omata F, Arakawa S, Takahashi H, Ueno F. Crohn's disease associated with pancreatitis of unknown etiology: a case report. *Gastroenterol Jpn* 1993; 28: 420-423.
7. Triantafillidis JK, Cheracakis P, Argyros N, Karra E. Acute idiopathic pancreatitis complicating active Crohn's disease: favorable response to infliximab treatment. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3334-3336.
8. Papanikolaou IS, Liatsos C, Dourakis SS. A case of acute pancreatitis associated with Crohn's disease. *Annals Saudi Med* 2002; 22: 70-72.
9. Moolsintong P, Loftus EV Jr, Chari ST, Egan LJ, Tremaine WJ, Sandborn WJ. Acute pancreatitis in patients with Crohn's disease: clinical features and outcomes. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 1080-1084.
10. Bermejo F, Lopez-Sanroman A, Taxonera C et al. Acute pancreatitis in inflammatory bowel disease, with special reference to azathioprine-induced pancreatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28: 623-628.
11. Faintuch J, Mott CB, Machado MC. Pancreatitis and pancreatic necrosis during sulfasalazine therapy. *Int Surg* 1985; 70: 271-272.
12. Fernandez J, Sala M, Panes J, Navarro S, Terés J. Acute pancreatitis after long-term 5-aminosalicylic acid therapy. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 2302-2303.

13. Bank L, Wright JP. 6-Mercaptopurine-related pancreatitis in 2 patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 1984 ; 29 : 357-359.
14. Floyd A, Pedersen L, Nielsen GL, Thorlacius-Ussing O, Sorensen HT. Risk of acute pancreatitis in users of azathioprine : a population-based case-control study. *Am J Gastroenterol* 2003 ; 98 : 1305-1308.
15. Corey WA, Doebbeling BN, DeJong KJ, Britigan BE. Metronidazole-induced acute pancreatitis. *Rev Infect Dis* 1991 ; 13 : 1213-1215.
16. Boruchowicz A, Gallon P, Foissey D et al. Acute pancreatitis associated with corticosteroid treatment in Crohn's disease. *Gastroenterol Clin Biol* 2003 ; 27 : 560-561.
17. Panizo Alcañiz J, Durán Aguado A, Gómez Rubio M, Opio Maestro V, García Alvarez J. Acute pancreatitis and malabsorption with tetany secondary to Crohn's disease with duodenal involvement. *Rev Esp Enferm Dig* 1997 ; 89 : 225-227.
18. Gómez Cedenilla A, León Colombo T, Pajares JM, Maté Jiménez J. Crohn's disease of the duodenum complicated by sclerosing cholangitis and pancreatitis. *Rev Esp Enferm Dig* 1996 ; 88 : 497-504.
19. Newman LH, Wellinger JR, Present DH, Aufses AH Jr. Crohn's disease of the duodenum associated with pancreatitis : a case report and review of the literature. *Mt Sinai J Med* 1987 ; 54 : 429-432.
20. Lashner BA, Kirsner JB, Hanauer SB. Acute pancreatitis associated with high-concentration lipid emulsion during total parenteral nutrition therapy for Crohn's disease. *Gastroenterol* 1986 ; 90 : 1039-1041.
21. Triantafillidis JK, Cheracakis P, Merikas EG, Peros G. Acute pancreatitis may precede the clinical manifestations of Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2003 ; 98 : 1210-1211.
22. Rey P, Andriamanantena D, Carrere C, Casassus-Builhe D, Perret JL. Recurrent acute idiopathic pancreatitis. Look for a chronic inflammatory disease of the intestine. *Presse Med* 2004 ; 33 : 1437-1438.
23. Bolukbas FF, Bolukbas C, Horoz M, Baba F, Uzunkoy A. A case of previously undiagnosed Crohn's disease presenting with acute pancreatitis as an extraintestinal manifestation. *Ann Saudi Med* 2005 ; 25 : 71-73.
24. Eland IA, Sturkenboom MJ, Wilson JH, Stricker BH. Incidence and mortality of acute pancreatitis between 1985 and 1995. *Scand J Gastroenterol* 2000 ; 35 : 1110-1116.
25. Appelros S, Borgstrom A. Incidence, aetiology and mortality rate of acute pancreatitis over 10 years in a defined urban population in Sweden. *Br J Surg* 1999 ; 86 : 465-470.
26. Lankisch PG, Assmus C, Maisonneure P, Lowenfels AB. Epidemiology of pancreatic diseases in Luneburg County. A study in a defined German population. *Pancreatology* 2002 ; 2 : 469-477.
27. Munk EM, Pedersen L, Floyd A, Nřrgĺrd B, Rasmussen HH, Sřrensen HT. Inflammatory bowel diseases, 5-aminosalicylic acid and sulfasalazine treatment and risk of acute pancreatitis : a population-based case-control study. *Am J Gastroenterol* 2004 ; 99 : 884-888.
28. Balani AR, Grendell JH. Drug-induced pancreatitis : incidence, management and prevention. *Drug Saf* 2008 ; 31 : 823-837.
29. Rasmussen HH, Fonager K, Sorensen HT, Pedersen L, Dahlerup JF, Steffensen FH. Risk of pancreatitis in patients with chronic inflammatory bowel disease. A Danish 16-year nationwide follow-up study. *Scand J Gastroenterol* 1999 ; 34 : 199-201.
30. Seibold F, Mork H, Tanza S et al. Pancreatic antibodies in Crohn's disease : A family study. *Gut* 1997 ; 40 : 481-484.
31. Sakorafas GH, Tsiotou AG. Etiology and pathogenesis of acute pancreatitis : Current consepts. *J Clin Gastroenterol* 2000 ; 30 : 343-356.
32. Weersma RK, Batstra MR, Kleibeuker JH, van Dullemen HM. Are pancreatic autoantibodies associated with azathioprine-induced pancreatitis in Crohn's disease? *JOP* 2008 ; 9 : 283-289.
33. Moolsintong P, Loftus EV Jr, Chari ST, Egan LJ, Tremaine WJ, Sandborn WJ. Acute pancreatitis in patients with Crohn's disease : clinical features and outcomes. *Inflamm Bowel Dis* 2005 ; 11 : 1080-1084.
34. Gotian A, Katz S : Pancreatitis associated with Crohn's disease : a premalignant state for cystadenocarcinoma of pancreas? *Am J Gastroenterol* 1999 ; 94 : 2301-2302.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

CAZURI CLINICE

AGAMAGLOBULINEMIE CONGENITALĂ LEGATĂ DE X BRUTON. PREZENTARE DE CAZ

Ştefana Maria Moisă[1], Aurica Rugină[1], Evelina Moraru[1], Stela Goţia[1], M. Burlea[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Clinica a II-a Pediatrie
2. Clinica a V-a Pediatrie

X-LINKED BRUTON CONGENITAL AGAMMAGLOBULINEMIA. CASE REPORT (Abstract): Congenital agamaglobulinemia is a B-cell deficiency caused by tirosin-kinase gene mutations. This article presents the case of a 2 years and 6 months old boy with a history of multiple respiratory infections, which also associates a malabsorbtion syndrome. The patient presented for symptoms of arthritis. After performing protein electrophoresis, the extremely low gamma fraction pointed out a hidden immunodeficiency. Gene analysis was performed in the Department of Pediatric Immunology of Debrecen University, Hungary and thus the final diagnose was determined. Arthritis and respiratory symptoms improved after immunoglobulin treatment. **Key words**: X-LINKED AGAMMAGLOBULINEMIA, MALABSORBTION SYNDROME, ARTHRITIS

Agamaglobulinemia congenitală legată de X a fost prima imunodeficienţă înţeleasă în detaliu, în anul 1952. Această boală reprezintă modelul de studiu al deficienţelor celulelor B, fiind caracterizată prin oprirea în dezvoltarea limfocitelor B, ceea ce duce la hipogamaglobulinemie severă (1). Agamaglobulinemia legată de X este cauzată de mutaţii în gena tirozin-kinazei specifice limfocitului B (*Btk*) (2) şi se transmite ca o boală recesivă Legată de X (3). Gena *Btk* se găseşte pe braţul lung al cromozomului X (Xq22) (4,5).

PREZENTARE DE CAZ

Pacientul R.S.E, de sex masculin, în vârstă de 2 ani şi 6 luni, internat în Clinica a II-a Pediatrie a Spitalului de Copii "Sfânta Maria" din Iaşi în perioada 25.09.2007-23.10.2007 prin transfer de la Spitalul Bacău, polispitalizat în trecut pentru infecţii recurente pulmonare şi intestinale, provine din mediu rural şi se internează în prezent pentru următoarele motive: tuse productivă cronică, astenie fizică, tumefierea genunchiului drept cu impotenţă funcţională clasa III, însoţită de durere.

Din anamneză reţinem: mama în vârstă de 36 ani, tatăl - 37 ani, 4 fraţi şi surori aparent sănătoşi. Este al cincilea copil, născut la termen, pe cale naturală, cu greutatea la naştere 2500 g, scor APGAR = 9, fără suferinţă la naştere, alimentat natural 4 luni, apoi diversificat corect, vaccinat conform schemei IOMC, profilaxia rahitismului realizată incorect.

Antecedente personale patologice: ascaridioză, enterocolită acută, bronhopneumonie, pneumonie lobară dreaptă, pneumonie recidivantă lobară dreaptă cu reacţie pleurală închistată, observaţie corp strain intrabronşic, larva migrans visceralis, pleurezie închistată scizură orizontală dreaptă, anemie carenţială, lambliază, hipotrofie staturo-ponderală, sepsis, pneumonie dreaptă cu *Pseudomonas aeruginosa*, atelectazie segment medial lob pulmonar mijlociu, artrită reactivă, neutropenie secundară, larva migrans visceralis, hipotrofie ponderală.

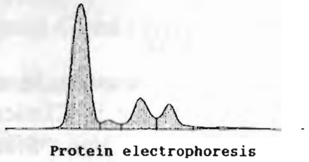
Boala debutează insidios la vârsta de aproximativ 1 an prin sindrom febril intermitent, tuse cronică, erupţii cutanate, eliminare de ascarizi, staţionare ponderală, transpiraţii profuze, sindrom funcţional respirator cu wheezing persistent, simptome pentru care a fost spitalizat la Secţia Pediatrie Bacău, unde a primit tratament cu antibiotice cu spectru larg, Albendazol 5 zile, cu ameliorare clinică şi radiologică, dar cu persistenţă radiologică a unui sindrom de lob mediu, pentru care este spitalizat şi tratat la Bacău la vârsta de 1 an şi 2 luni, 1 an şi 3 luni, 1 an şi 9 luni, 2 ani şi 1 lună, când este transferat în Clinica II Pediatrie Iaşi pentru observaţie aspiraţie de corp străin.

Examenul clinic la 2 ani şi 6 luni relevă: G = 11,3 kg (-4,3 DS), T = 83 cm (-2,6 DS), PC -3,5 DS; paloare cutaneomucoasă, artrită genunchi drept cu impotenţă funcţională clasa III, circumferinţă genunchi stâng = 20 cm, circumferinţă genunchi drept = 23,5 cm, submatitate în treimea inferioară a hemitoracelui drept, diminuarea murmurului vezicular bazal drept, wheezing intermitent cu polipnee 40 respiraţii/minut, SpO_2 = 97%, raluri subcrepitante bazal drept pe linia axilară posterioară, abdomen dureros difuz la palpare, tranzit intestinal accelerat, prezenţa de alimente nedigerate în scaun.

În perioada 9.06.2007-03.10.2007 pacientul a prezentat 5 spitalizări în clinică. În acest interval valoarea globulelor albe a variat de la $5300/mm^3$ la $16.600/mm^3$, în timp ce valoarea hemoglobinei s-a menţinut sub pragul normal (între 8,4 g/dL şi 10,8 g/dL), cu indici eritrocitari constant scăzuţi şi cu valori mici ale sideremiei (23 gamma% - 35 gamma%). Testele funcţionale hepatice şi renale s-au menţinut în limite normale. Examen spută: fibrină, >25 PMN/câmp, integre şi distruse, < 10 celule epiteliale, numeroşi bacili gram negativi polimorfi (bacil piocianic). Medulogramă: măduvă polimorfă, bogat celularizată, eritropoeza bine reprezentată, hipocromă; granulopoeza blocată maturativ, deviată la stânga; aproximativ 50% din granulocite sunt reprezentate de promielocite, sugerând blocaj toxic sau terapeutic; megakariopoeza plachetogenă. Testul transpiraţiei, ecografia abdominală, sumar urină, urocultură - în limite normale, exudat nazal şi faringian - negative; examenul coproparazitologic a evidenţiat prezenţa chiştilor Lamblia, iar chimismul materiilor fecale a sugerat diagnosticul de sindrom de malabsorbţie: fibre musculare, grăsimi- prezent; frecvent amidon intra şi extracelular.

Electroforeza proteinelor serice a evidenţiat hipogamaglobulinemie severă (fracţiune gamma- 3,6%) şi prezenţa inflamaţiei cronice (fracţiune alpha2-17,3%) (fig. 1).

Pentru evaluarea sindromului funcţional respirator s-a impus efectuarea radiografiei toracice, care a evidenţiat existenţa unei opacităţi de intensitate medie la nivelul parenchimului pulmonar bazal drept (fig. 2).



Total protein : 65.5 g/l A/G : 1.61

Name	%	g/l	Normal Ranges % g/l
ALBUMIN	61.7	40.4	52.0-65.0
ALPHA 1	4.5	2.9	2.0-5.5
ALPHA 2	17.3	11.4	6.0-11.7
BETA	12.9	8.5	7.0-14.7
GAMMA	3.6	2.3	9.5-19.8

Fig. 1. Electroforeza proteinelor serice

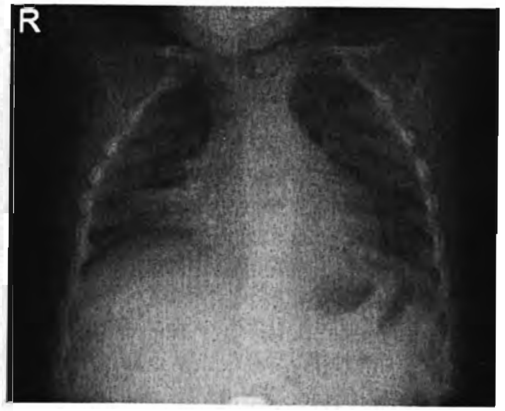


Fig. 2. Radiografie toracică incidenţă postero-anterioară

Imaginea obţinută sugerează o evoluţie favorabilă. Examenul CT descria existenţa unei formaţiuni expansive, solide, cu dimensiunea de 2,3/1,6/3 cm situată în segmentul median al lobului mijlociu drept, care nu a suferit modificări ale intensităţii după administrarea de contrast intravascular, relativ omogenă şi bine delimitată, centrată de mică scizură. În rest - arii pulmonare de aspect normal CT. Absenţa adenopatiilor mediastinale. Concluzie - atelectazie în segmentul medial al lobului mijlociu, delimitată inferior şi posterior de mică scizură.

Bronhoscopia efectuată anterior a exclus aspiraţia de corp străin, descriind doar inflamaţie, edem, secreţii bronsice abundente.

Examenul radiologic în dinamică a genunchiului drept arată evoluţia nefavorabilă a patologiei acestei zone: îngroşarea capsulei articulare, suprafeţe articulare de aspect normal (aspect iniţial), ulterior completat de apariţia osteoporozei difuze (fig. 3). Ecografie genunchi drept - absenţa lichidului intraarticular.

Evoluţia nefavorabilă a patologiei a impus efectuarea imunelectroforezei, care a arătat valori mult scăzute ale tuturor fracţiunilor: IgA= 0,01 g/L (VN= 0,20-1 g/L), IgG= 0,79 g/L (VN= 4,53-9,16 g/L), IgM < 0,13 g/L (VN= 0,19-1,46 g/L).

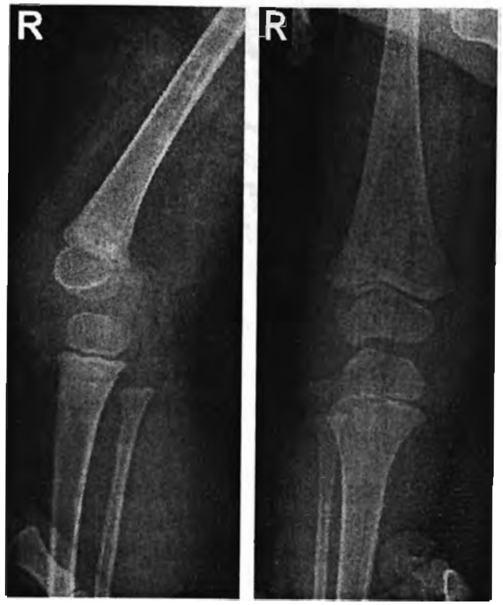


Fig. 3. Radiografie articulaţie genunchi tibio-femurală dreaptă (profil şi faţă)

Imunitatea celulară prin flux-citometrie şi analiza genică au fost efectuate în Laboratorul de Imunogenetică al Universităţii Debrecen, Ungaria (Prof. Dr. I. Marodi), evidenţiind scăderea severă a numărului LBCD19+ şi scăderea uşoară a numărului NKCD3-CD16+56+, valoarea normală a numărului LTCD3+CD4+ şi relativa creştere a numărului LTCD3+ şi LTCD3+CD8+.

Pentru stabilirea diagnosticului final s-a realizat analiza genică, în Departamentul de Imunologie infecţioasă şi pediatrică a Centrului medical şi ştiintific afiliat Universităţii Debrecen, Ungaria, aceasta relevând mutaţia genei *Btk* la nivelul intronului 16.

Diagnosticul final este agamaglobulinemie congenitală legată de X Bruton, sindrom de malabsorbţie, atelectazie segment medial lob mijlociu drept, anemie hipocromă microcitară, artrită reactivă genunchi drept, hipotrofie staturo-ponderală, lambliază.

Pacientul a primit tratament cu Becotide, aerosoli (Fluimucil), Liv 52, Fe Haussman, Klacid, Diflucan, Ibugesic, Tramadol, Octagam, Kreon, Albendazol şi excluderea din alimentaţie a glutenului.

Particularitatea cazului constă în absenţa episoadelor infecţioase până la vârsta de 1 an, în ciuda statusului sever imunodeprimat.

Diagnosticul diferenţial se face cu imunodeficienţă comună variabilă, hipogama-

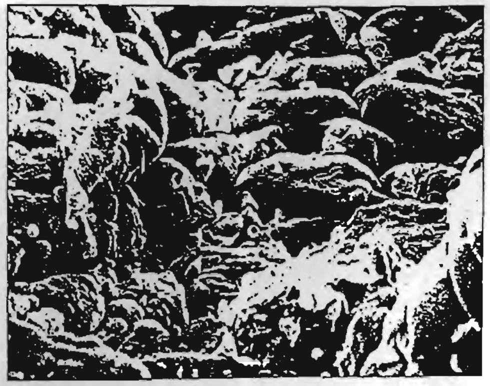


Fig. 4. Paraziţi *Giardia lamblia* la nivelul mucoasei jejunale

globulinemia tranzitorie a copilăriei, deficienţă combinată IgA şi IgG şi imunodeficienţă cu creşterea fracţiunii IgM, diagnosticul fiind tranşat prin imunelectroforeză şi analiză genică.

DISCUŢII

Imunodeficienţele primare sunt datorate defectelor intrinseci ale celulelor sistemului imun şi sunt determinate genetic. Imunodeficienţele secundare rezultă prin acţiunea factorilor extrinseci, cum ar fi unele medicamente, iradierea, malnutriţia sau infecţia. Imunodeficienţele cresc susceptibilitatea pacienţilor la infecţii. Infecţiile întâlnite la pacienţii imunodeficienţi se încadrează în două categorii. Pacienţii cu defecte ale imunoglobulinelor, complementului sau fagocitelor sunt susceptibili la infecţii recurente cu bacterii încapsulate ca *Haemophillus influenzae, Streptococcus pneumoniae* şi *Staphilococcus aureus*. Pacienţii cu deficienţe ale imunităţii mediate celular sunt susceptibili la infecţii potenţial letale cu bacterii ubiquitare (infecţii oportuniste). Toti pacienţii prezintă susceptibilitate crescută pentru parazitoze intestinale (fig. 4).

Agamaglobulinemia congenitală se încadrează în grupa imunodeficienţelor limfocitelor B, alături de imunodeficienţa comună variabilă, hipogamaglobulinemia tranzitorie a copilăriei, deficienţa combinată IgA şi IgG şi imunodeficienţa cu creşterea fracţiunii IgM. Imunodeficienţele legate de X se împart în: boala granulomatoasă cronică legată de X, sindromul Wiskot-Aldrich, imunodeficienţă severă combinată legată de X, agamaglobulinemia legată de X şi imunodeficienţa legată de X cu creşterea fracţiunii IgM.

În agamaglobulinemia legată de X se produce inhibiţia precoce a maturării limfocitelor B. Pacienţii sunt de sex masculin, prezintă un număr scazut sau chiar absenţa celulelor B la nivelul ţesuturilor limfoide şi sângelui periferic (6). Prin urmare, ganglionii limfatici sunt foarte mult reduşi ca dimensiuni şi amigdalele pot fi absente. Serul conţine nivele foarte mici de IgG şi se descrie absenţa totală a IgA, IgM, IgD sau IgE. În primele 6-12 luni de viaţă, pacienţii sunt protejaţi de infecţii de către imunoglobulinele G materne care au trecut bariera feto-placentară, însă pe măsură ce acestea se epuizează, ei dezvoltă infecţii piogene recurente. Acest lucru poate fi prevenit prin perfuzarea cu doze mari de gamaglobuline. Gena agamaglobulinemiei legate de X se găseşte la nivelul braţului lung al cromozomului X. Acesta este situsul multor altor imunodeficienţe ereditare, iar localizarea acestor gene facilitează diagnosticul prenatal (7). Gena alterată în cazul acestei boli este gena tirozin-kinazei citoplasmei limfocitului B (*Btk*), care face parte din familia oncogenelor *src* (8). Rolul său în maturarea limfocitului B nu este încă pe deplin cunoscut. Măduva pacienţilor cu agamaglobulinemie Bruton conţine un număr normal de precursori ai limfocitului B, dar, ca rezultat al mutaţiei genei *Btk*, ei nu se pot matura. Pacienţii cu agamaglobulinemie legată de X au manifestări clinice care nu pot fi diferenţiate de cele din deficienţa ereditară a componentei C_3 a complementului. (9)

BIBLIOGRAFIE

1. Lederman HM, Winkelstein JA. X-linked agammaglobulinemia: an analysis of 96 patients. *Medicine* (Baltimore) 1985 ; 64 : 145-156.
2. Rawlings DJ, DC Saffran DC, Tsukada S. Mutation of unique region of Bruton's tyrosine kinase in immunodeficient XID mice. *Science* 1993 ; 261 : 358-361.
3. Mensink EJ, Thompson A, Schot JD. Genetic heterogeneity in X-linked agammaglobulinemia complicates carrier detection and prenatal diagnosis. *Clin Genetics* 2008 ; 31 : 91-96.
4. Tao L, Mark Boyd M, Gonye G. BTK mutations in patients with X-linked agammaglobulinemia : Lack of correlation between presence of peripheral B lymphocytes and specific mutations. *Human Mutation* 2000 ; 16 : 528-529.
5. Smith CI, Olerup O,Wallin E. X-Linked agammaglobulinemia and other immunoglobulin deficiencies. *Immunol Rev* 2006 ; 138 : 159-183.
6. Conley ME. Molecular approaches to analysis of X-linked immunodeficiencies. *Ann Rev Immunol* 1992 ; 10 : 215.
7. Curnutte JT, Orkin SH, Dinauer MC. Genetic disorders of phagocyte function. In : Stamatoyannopoulus G, Nienhuis AW, Majerus PE, Varmus H editors. *The Molecular Basis of Blood Diseases*. Philadelphia : WB Saunders, 1994, 443-463.
8. Rosen FS, Selingman M. *Immunodeficiency Reviews*. vol 1. London : Gordon Breech, 1988.
9. Von Andrian UH, Berger EM, Chambers JD et al. In vivo behaviour of neutrophils from two patients with distinct inherited leukocyte adhesion deficiency syndromes. *J Clin Invest* 1993 ; 91 : 2893.

NOUTĂŢI

EFECTELE CLINICE ŞI MICROBIOLOGICE ALE ADMINISTRĂRII SUBGINGIVALE DE AZITROMICIN 0,5% ÎN TRATAMENTUL PARODONTITELOR CRONICE

Cercetări recente sugerează că administrarea locală a substanţelor antimicrobiene în pungile parodontale poate ameliora starea parodonţiului marginal. Autorii studiului au evaluat efectul clinic şi microbiologic al aplicării locale a unui gel bioabsorbabil cu eliberare controlată de azitromicină, având o concentraţie de 0,5%, administrat ca adjuvant al terapiei nechirurgicale pentru parodontite cronice. Studiul a cuprins 80 de pacienţi cu o astfel de patologie, împărţiţi în două loturi, cărora li s-a efectuat detartraj şi surfasaj radicular. Pacienţilor din lotul de studiu li s-a administrat în plus gelul cu azitromizină. Parametrii clinici (indicele gingival modificat, indicele de sângerare modificat, profunzimea pungii parodontale şi nivelul ataşamentului parodontal) au fost întregistraţi iniţial şi după 1, 2, respectiv 3 luni, iar evaluările microbiologice au fost realizate iniţial, după 6, respectiv 12 săptămâni. Concentraţia medie de azitromicină din fluidul crevicular a fost estimată prin cromatografie. Ambele tratamente au determinat ameliorări semnificative la nivelul parodonţiului marginal, cuantificabile prin valorile indicilor parodontali şi conţinutului microbiologic al plăcii subgingivale. Concentraţiile medii de azitromicină au prezentat o acţiune antimicrobiană suficientă ($>2\mu g/ml$), îndeplinind condiţiile pentru funcţionarea unui sistem cu eliberare controlată. Compararea datelor clinice şi microbologice pentru cele două loturi a demonstrat că deşi ambele tipuri de tratament au determinat efecte benefice, utilizarea adjuvantă a gelului cu azitromicină a îmbunătăţit rezultatele clinice şi microbiologice (Pradeep AR, Sagar SV, Daisy H. Clinical and microbiologic effects of subgingivally delivered 0,5% azithromycin in the treatment of chronic periodontitis. *J Periodontol* 2008 ; 79 (11) : 2125-2135).

Gianina Iovan

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

VACUOLIZATION OF TUBULES IN GADOLINIUM-ASSOCIATED ACUTE RENAL FAILURE

Elisabeth D. Riviello[1], K.C. Wang[1], M.E. Hochman[2], Al. Sariban[3],
R.C. Da Rocha[4], Gr. Dogaru[5], K. Christopher[1]
Harvard Medical School Boston
Brigham and Women's Hospital Boston
1 Department of Medicine, Renal Division
2. Cambridge Hospital Cambridge
Universite Libre de Bruxelles
3. School of Medicine
MetroWest Medical Center Framingham
4. Department of Medicine
University of Medicine and Pharmacy Târgu Mureş
5. Department of Nephrology

VACUOLIZATION OF TUBULES IN GADOLINIUM-ASSOCIATED ACUTE RENAL FAILURE (Abstract): While gadolinium was initially thought to be a safe alternative to iodinated contrast agents for patients with chronic renal insufficiency, many reports of gadolinium-associated acute renal failure have now been recorded, particularly in patients with underlying renal insufficiency. In addition, animal models have demonstrated tubule vacuolization with experimental gadolinium administration that is similar to vacuolization seen with other contrast agents. We present a case of a patient with nephrotic-range proteinuria and chronic renal insufficiency, who developed acute renal failure following gadolinium administration undergoing furosemide stimulated diuresis. This case is the first report of pathologic tubule vacuolization in gadolinium-associated nephropathy in a human kidney biopsy. This case suggests a relationship between the pathogenesis of CIN with standard contrast media and CIN with gadolinium. Research is needed to better understand the pathologic findings and pathogenesis of gadolinium-associated nephrotoxicity. **Key words**: ACUTE RENAL FAILURE, CONTRAST-INDUCED NEPHROPATHY, GADOLINIUM, TUBULE VACUOLIZATION

While gadolinium was initially thought to be a safe alternative to iodinated contrast agents for patients with chronic renal insufficiency, many reports of gadolinium-associated acute renal failure have now been recorded, particularly in patients with underlying renal insufficiency. In addition, animal models have demonstrated tubule vacuolization with experimental gadolinium administration that is milder, but otherwise similar, to vacuolization seen with other contrast agents. We present a case of a patient with diabetes, hypertension, diastolic dysfunction, nephrotic-range proteinuria and chronic renal insufficiency, who developed acute renal failure following gadolinium administration while undergoing furosemide diuresis. This case is the first report of pathologic tubule vacuolization in gadolinium-associated nephropathy in a human kidney biopsy.

CASE REPORT

A 66-year-old female of Jamaican origin with a history of longstanding diabetes, poorly controlled hypertension, past cerebrovascular accident, chronic renal insufficiency, iron deficiency anemia, and diastolic cardiac dysfunction, presented with eight weeks of progressive dyspnea and new dyspnea at rest. The patient noted shortness of breath with taking 2-3 steps, as well as 3-pillow orthopnea with occasional paroxysmal nocturnal dyspnea. Of note, the patient mentioned an increase in her lower extremity edema and said that her 20 mg per day furosemide dose was not as effective as it once was. Her past medical history is notable for decreasing renal function. The patient had a baseline creatinine of 0.9 - 1.0 mg/dL four years prior, with progression to creatinine of 1.4 mg/dL over the following three years. Over the past year, the patient's creatinine had increased from 1.4 mg/dL to 2.3 mg/dL. Her past history is also notable for longstanding anemia, with a decrease in her hematocrit from 34-36% to 24-28% over the past month. The patient noted that her home blood pressure was in the 180-90 / 80 mm Hg range.

On evaluation, the patient was afebrile with a pulse of 78 beats per minute, respirations of 18 per minute, blood pressure of 186/87 mm Hg, and an oxygen saturation of 99% on 2 liters per minute nasal cannula oxygen. Jugular venous pressure was estimated at 10 cm and 2+/2+ carotid pulse was present bilaterally without bruit. Bilateral breath sounds with expiratory wheezes were present. On auscultation, crackles were present half way up the chest. Cardiac exam was notable for a normal S1 and split S2, without an S3. A II/VI murmur at the right upper sternal border and left upper sternal border was appreciated. Her abdomen was soft, nontender, and nondistended. 2+ pitting edema to the knees bilaterally was observed. The patient was alert and appropriately responsive to commands.

Data on presentation was significant for an electrocardiogram that revealed left ventricular hypertrophy by voltage, ST depression in V3-V6 ; and <5 mm ST depression in I and L, consistent with strain. A chest X-ray was notable for an enlarged heart, pulmonary vascular redistribution, and full hila. Laboratory data was significant for a troponin I of 0.27 ng/ml, BNP of 969 pg/ml, hematocrit of 28.0%, creatinine of 2.7 mg/dL, and >= 300 mg/dL protein on urine dipstick.

The patient was presumed to have dyspnea related to a non-ST segment elevation myocardial infarction associated with hypertension, and was admitted to the hospital. She was initially treated with furosemide, nitroglycerin, metoprolol, heparin, aspirin and the IIb/IIIa inhibitor eptifibatide.

The patient received two days of furosemide stimulated diuresis. She also received mucormyst in anticipation of cardiac catheterization and renal artery catheterization. She received isordil for blood pressure control, and received three units of packed red blood cells for anemia.

An echocardiogram was notable for an ejection fraction of 40-45 % with mildly reduced left ventricular function, moderate left ventricular hypertrophy and diffuse global hypokinesis. Technetium-99m methoxyisobutylisonitrile cardiac imaging was notable for perfusion defects suggesting multivessel coronary artery disease. Significant ischemia of distal LAD distribution and left circumflex artery distribution was demonstrated.

Over the next 48 hours the patient's serum creatinine increased to 3.1 mg/dL. A magnetic resonance angiography (MRA) of the abdomen with 40 cc of intravenous gadopentetate dimeglumine (Magnevist®, Berlex Montville, NJ) was performed to evaluate her worsening renal function associated with refractory hypertension. The MRA showed a widely patent right renal

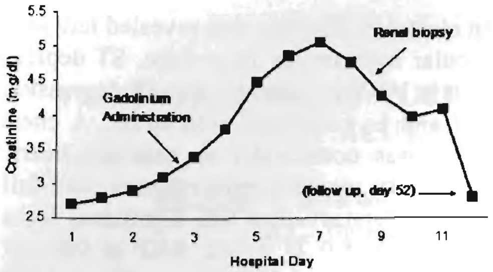


Fig. 1. Creatinine over time

artery, and mild left renal artery stenosis.

Following the MRA, the serum creatinine increased from 3.1 mg/dL to 5.1 mg/dL over the next 4 days (fig. 1). Urinalysis was notable for 3+ protein and 3+ blood, though the latter had to be interpreted in the context of recent foley catheterization. A renal ultrasound indicated 12.1 cm kidneys bilaterally, with no hydronephrosis and a simple left renal cyst. The urine sediment was bland. 7.1 grams of protein was demonstrated on a 24-hour urine collection. A right renal biopsy was performed due to the patient's progressive renal failure, nephrotic range proteinuria, and anemia out of proportion to renal failure.

The kidney biopsy showed a near end stage kidney with focal, global, and segmental glomerulosclerosis and nodular changes affecting approximately 80% of the glomeruli on light microscopy. There was also tubular atrophy and interstitial fibrosis affecting approximately 70% of the parenchyma, as well as severe arterial sclerosis and hyalinosis. In addition, focal epithelial vacuolization was noted in otherwise normal tubules on light microscopy (fig. 2). The electron microscopy showed four out of five glomeruli with global sclerosis. The viable glomerulus revealed periglomerular fibrosis and wrinkling of the glomerular basement membranes. Isolated loops also revealed double contours, with cellular interposition and ill-defined densities. The better-preserved capillaries revealed focally extensive albeit not diffuse effacement of visceral epithelial cell foot processes. The glomerular basement membranes were of average thickness. Glomerular endothelial cells showed non-specific changes and did not contain tubuloreticular structures. Rare vague densities were seen along the peripheral basement membrane, which may represent old healed electron dense deposits. The mesangium showed normal cell elements and an extracellular matrix without electron dense deposits. The tubulointerstitial compartment showed atrophic changes of the tubules and interstitial collagen deposition.

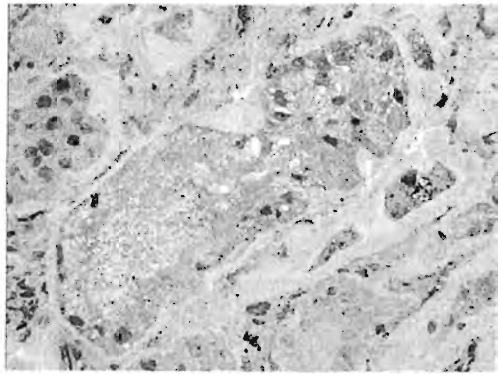


Fig. 2. Toluidine blue-stained semi-thin plastic section showing isometric vacuolization of proximal tubular epithelial cells in a viable tubule

The biopsy findings were thus consistent with longstanding vascular injury, probably aggravated by diabetes mellitus, as well as evidence of recent acute tubular injury.

Over the next 72 hours the serum creatinine improved to 4.0 mg/dL and the patient was discharged with planned arteriovenous fistula placement. The patient's creatinine continued to fall towards her baseline, and was 2.8 mg/dL three weeks after discharge.

DISCUSSION

Evidence for Gadolinium-Associated Nephrotoxicity

Contrast-induced nephropathy (CIN) is a poorly understood phenomenon in which renal function is impaired within two-three days of intravascular administration of radiologic contrast, and alternative etiologies for renal dysfunction are not found.(1,2,3). It has long been recognized that iodinated contrast agents used during radiographic evaluation of the vasculature are nephrotoxic and have the potential to induce renal failure. Gadolinium-based formulations are non-iodinated paramagnetic contrast agents that are predominately infused intravenously during vascular imaging with magnetic resonance angiography (MRA). Historically, intravenous gadolinium-based contrast medium has been well-tolerated, and has a well-documented safety profile (4,5) with negligible nephrotoxicity when given within recommended dosages (6,7). In fact, gadolinium-based preparations have been developed for use as substitutes for iodinated contrast medium, especially in patients with comorbid renal insufficiency (8,9). Several studies have supported the use and safety profile of gadolinium agents. Ailawadi et al. examined gadolinium as a contrast agent in catheter-based arteriography in patients with azotemia and concluded that it was a safe and effective means to evaluate the renal arterial circulation (10). Hoffmann et al. showed that the administration of gadolinium, surprisingly, is associated with a decrease in serum creatinine in patients with pre-existing renal impairment, and concluded that the use of gadolinium-based contrast media could be considered as a safe alternative to iodine-based agents in patients with impaired renal function (11). In experimental animals, where there are few reported models, Kwak et al. showed that more severe apoptosis occurred in the renal cortex of rats that received computed tomography (CT) contrast compared with those that received gadolinium (12).

However, an increasing number of reports in the literature have described severe adverse reactions to standard doses of gadolinium, starting with Gemery et al. (13) and Terzi et al. (14). Schenker et al. reported a case of acute pancreatitis and acute renal failure after the administration of a gadolinium-based contrast agent (15), while Sam et al. described 7 patients, all with pre-infusion renal insufficiency, in whom acute oliguric and anuric renal failure developed after gadolinium infusion (16); in contrast, acute renal failure did not develop in any of their patients with normal baseline renal function. A case report by Thomsen highlighted the possibility that renal damage could be significant even with moderate doses of a gadolinium-based contrast medium in patients at high risk for contrast-associated nephrotoxicity (17). In fact, just 2 years earlier, The Contrast Media Safety Committee of the European Society of Urogenital Radiology concluded upon an extensive review of the literature that use of gadolinium-based contrast media for radiographic examinations to avoid nephrotoxicity in patients with renal impairment was not recommended as these were more nephrotoxic than iodinated contrast media in equivalent X-ray attenuating doses (18).

Giozzet et al. argued that gadolinium is the same as CT contrast in terms of renal toxicity, from observing two patients with azotemia (19). Erley et al. reported that gadolinium-based digital subtraction angiography does not prevent a decline in glomerular filtration rate in patients with severe renal insufficiency (20). Briguori et al. argue that the general concept that gadolinium chelates are not nephrotoxic may not hold true, as evidenced by their observational study which showed greater incidence of renal failure requiring temporary dialysis occurring in patients that received gadolinium (21). Ergun et al. evaluated the safety of gadolinium in patients with moderate and severe renal failure, and found that acute renal failure can occur after gadolinium-based contrast agents in patients with identifiable risk factors such as diabetic nephropathy and low GFR (22).

Unfortunately, there are currently no recommendations for the maximum safe dose of gadolinium, nor is there a minimum recommended creatinine clearance below which gadolinium should not be administered.

Proposed Mechanisms of Gadolinium Nephrotoxicity and Pathologic Correlates

Both hypoxic cell damage in the renal medulla and direct cytotoxic effects on renal tubular cells are thought to play a role in contrast-induced nephropathy (2). The former may occur through such diverse mechanisms as decreased renal medullary flow from increased tubular fluid viscosity, immunologic reactions, increased erythrocyte aggregation, paracrine factors such as endothelin and adenosine, and reactive oxygen species (1,3,23).

A few pathologic findings, including interstitial inflammation, cellular necrosis, and tubule epithelial cell vacuolization, accompany CIN, and point to a direct toxic effect of contrast media on renal tubular epithelial cells. Vacuolization of tubular cells may represent pinocytic vesicle uptake of solutes and a mismatch of the solute type or amount with lysosomal enzymes (24,25), or it may originate from lateral membranes (26). Proximal tubule vacuolization is a fairly specific finding that results from hypokalemia (27,28,29), certain medications (vancomycin (30), cyclosporine (29,31), and lithium (32)), or from the osmotic action of substances (mannitol, hetastarch, dextran 40, dextran 70, sucrose, and contrast agents (27,29,33)) - so-called osmotic tubulopathies. Vacuolization is reversible, begins within 30 minutes, and can last as long as a few weeks (23,25).

As with other CIN, it is unclear how gadolinium causes renal damage; however, rat models suggest that direct tubule damage, manifested by tubule vacuolization, plays a role. Animal studies have suggested that gadopentetate dimeglumine can lead to the same tubular damage with epithelial vacuolization that is seen with other contrast agents as described above. In one study, rats with normal kidneys developed mild vacuolization seen with electron microscopy, but not light microscopy, in response to gadopentetate dimeglumine (34). Other studies have shown that the vacuolization is more pronounced in rats with other conditions that can depress kidney function such as dehydration (25), experimental hemorrhagic necrotizing pancreatitis (24), and experimental acute edematous pancreatitis (23). In these studies, epithelial vacuolization was seen with light microscopy and electron microscopy. The tubular damage observed in the rat kidneys after gadopentetate dimeglumine was considerably less severe than that seen with contrast agents used for CT scanning including high-osmolal diatrizoate, low-osmolal iopromide or iohexol, and iso-osmolal iotrolan. While cell organelles were intact, cell damage was suggested by the presence of degraded material in the vacuoles, a reflection of damaged cellular structure remnants. Electron microscopy in rat models suggests that the vacuolization process can cause intracellular injury (24), and lysosomal congestion can leave permanent myeloid bodies, a process which may accelerate cellular aging (24,25). In vitro studies have confirmed direct cellular toxicity from radiocontrast agents by demonstrating DNA fragmentation and interrupted mitochondrial activity in experimental tubule cells in the absence of hypoxia (2,35).

CONCLUSION

The case we present here is the first observation of pathologic tubule cell vacuolization in the setting of gadolinium-associated nephropathy in a human kidney. As mentioned above, mechanisms for CIN are not clear, and the relationship between the pathologic findings of vacuolization and the clinical findings of renal failure are not fully understood. Patients with suspected CIN do not usually undergo biopsy; our patient, therefore, represented a unique opportunity to examine pathology in the setting of suspected CIN. We believe this to be the first case report of human gadolinium-associated nephropathy which includes correlated pathology.

This patient had no other insults to explain her acutely worsening renal function, nor any other insults that have been associated with tubule vacuolization (hypokalemia, specific medications, other osmotic substances). The time course of her acute renal failure and the return toward her baseline creatinine, are consistent with the progression generally recognized in contrast-induced nephropathy. The patient did demonstrate some worsening of her renal function prior to gadolinium administration, which may have been related to a relative decrease in renal perfusion; however, her renal function worsened abruptly after gadolinium administration and began to resolve four days later. Other factors that could contribute to acute renal deterioration in this patient, such as hypertension or ischemia from heart failure, had improved by the time of the observed rise in creatinine. The absence of other potential vacuolization-inducing insults, with the time course of acute renal failure and resolution strongly suggest that this patient's acute renal failure was associated with gadolinium administration, and that the pathologic vacuolization observed is also linked to gadolinium.

This case, in the context of previous evidence of gadolinium-induced nephrotoxicity in humans and gadolinium-associated tubule vacuolization in animal models, suggests a relationship between the pathogenesis of CIN with standard contrast media and CIN with gadolinium. Research is needed to better understand the pathologic findings and pathogenesis of gadolinium-associated nephrotoxicity.

ACKNOWLEDGEMENTS

We acknowledge Helmut Rennke, MD and Joel M. Henderson, MD, PhD for their expertise in preparing and analyzing the renal pathology

REFERENCES

1. Persson PB. Contrast-induced nephropathy. *Eur Radiol* 2005; 15 Suppl 4: D65-D69.
2. Hizoh I, Strater J, Schick CS, Kubler W, Haller C. Radiocontrast-induced DNA fragmentation of renal tubular cells in vitro: role of hypertonicity. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 911-918.
3. Goldenberg I, Matetzky S. Nephropathy induced by contrast media: pathogenesis, risk factors and preventive strategies. *CMAJ* 2005; 172: 1461-1471.
4. Runge VM, Bradley WG, Brant-Zawadzki MN et al. Clinical safety and efficacy of gadoteridol: a study in 411 patients with suspected intracranial and spinal disease. *Radiol* 1991; 181: 701-709.
5. Niendorf HP, Alhassan A, Geens VR, Clauss W. Safety review of gadopentetate dimeglumine. Extended clinical experience after more than five million applications. *Invest Radiol* 1994; 29 Suppl 2: S179-S182.
6. Prince MR, Arnoldus C, Frisoli JK. Nephrotoxicity of high-dose gadolinium compared with iodinated contrast. *J Magn Reson Imaging* 1996; 6: 162-166.
7. Tombach B, Bremer C, Reimer P et al. Renal tolerance of a neutral gadolinium chelate (gadobutrol) in patients with chronic renal failure: results of a randomized study. *Radiol* 2001; 218: 651-657.

8. Arsenault TM, King BF, Marsh JW Jr. et al. Systemic gadolinium toxicity in patients with renal insufficiency and renal failure : retrospective analysis of an initial experience. *Mayo Clin Proc* 1996 ; 71 : 1150-1154.
9. Kaufman JA, Geller SC, Waltman AC. Renal insufficiency : gadopentetate dimeglumine as a radiographic contrast agent during peripheral vascular interventional procedures. *Radiol* 1996 ; 198 : 579-581.
10. Ailawadi G, Stanley JC, Williams DM, Dimick JB, Henke PK, Upchurch GR Jr. Gadolinium as a nonnephrotoxic contrast agent for catheter-based arteriographic evaluation of renal arteries in patients with azotemia. *J Vasc Surg* 2003 ; 37 : 346-352.
11. Hoffmann U, Fischereder M, Reil A, Fischer M, Link J, Kramer BK. Renal effects of gadopentetate dimeglumine in patients with normal and impaired renal function. *Eur J Med Res* 2005 ; 10 : 149-154.
12. Kim YK, Kim CS, Lee YH, Kwak HS, Lee JM. Comparison of superparamagnetic iron oxide-enhanced and gadobenate dimeglumine-enhanced dynamic MRI for detection of small hepatocellular carcinomas. *Am J Roentgenol* 2004 ; 182 : 1217-1223.
13. Gemery J, Idelson B, Reid S et al. Acute renal failure after arteriography with a gadolinium-based contrast agent. *Am J Roentgenol* 1998 ; 171 : 1277-1278.
14. Terzi C, Sokmen S. Acute pancreatitis induced by magnetic-resonance-imaging contrast agent. *Lancet* 1999 ; 354 : 1789-1790.
15. Schenker MP, Solomon JA, Roberts DA. Gadolinium arteriography complicated by acute pancreatitis and acute renal failure. *J Vasc Interv Radiol* 2001 ; 12 : 393.
16. Sam AD, Morasch MD, Collins J, Song G, Chen R, Pereles FS. Safety of gadolinium contrast angiography in patients with chronic renal insufficiency. *J Vasc Surg* 2003 ; 38 : 313-318.
17. Thomsen HS. Gadolinium-based contrast media may be nephrotoxic even at approved doses. *Eur Radiol* 2004 ; 14 : 1654-1656.
18. Thomsen HS, Almen T, Morcos SK. Gadolinium-containing contrast media for radiographic examinations : a position paper. *Eur Radiol* 2002 ; 12 : 2600-2605.
19. Giozzet M, Cavagna E, De Dea M et al. (Gadolinium for DSA in two patients with azotemia : Images of suitable quality and risk of acute renal failure). *G Ital Nefrol* 2003 ; 20 : 298-301.
20. Erley CM, Bader BD, Berger ED et al. Gadolinium-based contrast media compared with iodinated media for digital subtraction angiography in azotaemic patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004 ; 19 : 2526-2531.
21. Briguori C, Colombo A, Airoldi F et al. Gadolinium-based contrast agents and nephrotoxicity in patients undergoing coronary artery procedures. *Catheter Cardiovasc Interv* 2006 ; 67 : 175-180.
22. Ergun I, Keven K, Uruc I et al. The safety of gadolinium in patients with stage 3 and 4 renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2006 ; 21 : 697-700.
23. Tervahartiala P, Kivisaari R, Virtanen I. Contrast media-induced renal morphologic changes in rats with acute edematous pancreatitis. *Invest Radiol* 1992 ; 27 : 520-524.
24. Tervahartiala P, Kivisaari L, Kivisaari R, Virtanen I. Contrast media-induced renal morphologic lesions during experimental hemorrhagic necrotizing pancreatitis. *Invest Radiol* 1992 ; 27 : 1064-1068.
25. Tervahartiala P. Contrast media-induced renal tubular vacuolization after dehydration. A light and electron microscopic study in rats. *Invest Radiol* 1992 ; 27 : 114-118.
26. Heyman SN, Brezis M, Reubinoff CA et al. Acute renal failure with selective medullary injury in the rat. *J Clin Invest* 1988 ; 82 : 401-412.
27. Churg J. *Renal Disease Classification and Atlas of Tubulo-Interstitial Diseases*. New York : Igaku-Shoin ; 1985.
28. Robeva R, Belovezhdov N, Minkova V, Doichinov D. Hypokalemic nephropathy from the chronic use of diuretics and laxatives. *Vutr Boles* 1990 ; 29 : 130-134.
29. Brenner BM. *Brenner and Rector's The Kidney*. 7th ed : WB Saunders ; 2003.

30. Oktem F, Arslan MK, Ozguner F et al. In vivo evidences suggesting the role of oxidative stress in pathogenesis of vancomycin-induced nephrotoxicity : protection by erdosteine. *Toxicol* 2005 ; 215 : 227-233.
31. Gardner MP, Houghton DC, Andoh TF, Lindsley J, Bennett WM. Clinically relevant doses and blood levels produce experimental cyclosporine nephrotoxicity when combined with nitric oxide inhibition. *Transplantation* 1996 ; 61 : 1506-1512.
32. McAuliffe WG, Olesen OV. Effects of lithium on the structure of the rat kidney. *Nephron* 1983 ; 34 : 114-124.
33. Soares SM, Sethi S. Impairment of renal function after intravenous immunoglobulin. *Nephrol Dial Transplant* 2006 ; 21 : 816-817.
34. Thomsen HS, Dorph S, Larsen S et al. Urine profiles and kidney histology after intravenous injection of ionic and nonionic radiologic and magnetic resonance contrast media in normal rats. *Acad Radiol* 1994 ; 1 : 128-135.
35. Heinrich MC, Kuhlmann MK, Grgic A, Heckmann M, Kramann B, Uder M. Cytotoxic effects of ionic high-osmolar, nonionic monomeric, and nonionic iso-osmolar dimeric iodinated contrast media on renal tubular cells in vitro. *Radiol* 2005 ; 235 : 843-849.

NOUTĂŢI

EFECTUL TEHNICILOR DE STRATIFICARE ASUPRA ADEZIUNII RESTAURĂRILOR CU MATERIAL COMPOZIT LA DENTINĂ

Contracţia de polimerizare din timpul prizei răşinilor compozite determină un stres semnificativ care poate produce fie tensiuni la nivelul pereţilor dentari care susţin restaurarea, fie eşec adeziv la nivelul interfeţei dintre material şi pereţii cavităţii. Pentru diminuarea acestui stres este importantă realizarea unei cavităţi cu o configuraţie favorabilă eliberării tensiunilor formate în timpul prizei. Configuraţia cavităţii este descrisă de "factorul C", care reprezintă raportul dintre suprafaţa destinată adeziunii materialului şi suprafaţa liberă a restaurării. Anumite cavităţi pot prezenta o suprafaţă mare de contact cu materialul – favorabilă adeziunii şi o suprafaţă liberă redusă ce determină concentrarea stresului şi transferul acestuia în pereţii restaurării – efect evident nefavorabil adeziunii. Din acest motiv au fost propuse tehnicile de restaurare care utilizează straturi succesive de material, ceea ce permite atât diminuarea volumetrice a contracţiei cât şi crearea unei configuraţii favorabile eliberării stresului. Totuşi eficienţa acestor metode în ameliorarea adeziunii la dentina planşeului cavităţii, reprezintă deocamdată un subiect de controversă. În acest studiu realizat in vitro, au fost testate patru tehnici de restaurare care utilizează straturi succesive de material : (1) trei straturi orizontale ; (2) strat orizontal la baza cavităţii şi două straturi oblice ; (3) două straturi oblice la baza cavităţii şi un strat orizontal extern ; (4) trei straturi oblice la baza cavităţii şi un strat orizontal extern. Cavităţile preparate pe dinţi umani proaspăt extraşi au fost obturate cu materialul compozit Z 100 (3M Espe) aplicat cu sistemul adeziv Single Bond (3M Espe). Evaluarea adeziunii s-a făcut prin măsurarea rezistenţei adeziunii la tensiune şi prin analiza suprafeţelor de fractură la microscopul electronic cu baleiaj. Rezultatele au arătat că rezistenţa adeziunii la tensiune a fost semnificativ mai mare în grupul 4 faţă de grupul 1. Deşi rezultatele au fost mai bune în grupul 3 faţă de grupul 2, diferenţele nu au fost statistic semnificative. Imaginile microcopice au arătat că indiferent de tipul tehnicii folosite, au existat eşecuri coezive la nivelul stratului hibrid format la nivelul interfeţei şi eşecuri coezive în răşina compozită. Aceste rezultate susţin ipoteză că modul în care sunt aplicate straturile de răşină compozită influenţează adeziunea la dentina de la baza cavităţii (Niu Y, Ma X, Fan M, Zhu S. Effects of layering techniques on the micro-tensile bond strength to dentin in resin composite restoration. *Dent Mat* 2009 ; 25 (1) : 129-134).

Gianina Iovan

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

INFARCTUL MIOCARDIC LA COPIL. CAZ CLINIC

C. Iordache[1], **Alina Luca**[1], **Doina Mihăilă**[2], **P. Plamadeală**[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Clinica I Cardiologie Pediatrică
Spitalul Clinic de Urgenţă "Sf. Maria" Iaşi
2. Laboratorul de Anatomie Patologică

MYOCARDIAL INFARCTION IN CHILDREN. CASE REPORT (Abstract): Myocardial infarction is a rare condition in children. We present the case of a 14-year-old girl with known cardiac abnormalities admitted to our pediatric cardiology department with cough, cyanosis, low level of consciousness, and difficult breathing. Two days after her admission, she developed severe thoracic pain associated with tachycardia and agitation. The electrocardiogram revealed myocardial ischemia and then myocardial infarction with a rapid onset of cardiac arrest not responding to resuscitation techniques. Postmortem examination confirmed the diagnosis. **Key words**: MYOCARDIAL INFARCTION, CHILDREN

Pacientă în vârstă de 14 ani, din mediul rural, se prezintă pentru internare acuzând tuse seacă, dispnee de repaus, obnubilare, simptome ce au debutat în ultimele 24 de ore. Pacienta este cunoscută în antecedente cu hipoacuzie diagnosticată la naştere şi urmată de mutitate, iar la internarea precedentă în clinica noastră în 2003, este diagnosticată cu stenoză aortică, cardiomiopatie hipertrofică, hipertensiune arterială pulmonară.

Examenul clinic la internare relevă hipotrofie staturo-ponderală, cianoză perioronazală şi la nivelul extremităţilor, degete hipocratice, raluri crepitante pulmonar bazal bilateral, dispnee cu polipnee (frecvenţă respiratorie 30/min), suflu sistolic gradul IV/VI în toate focarele de ascultaţie, congestie faringo-amigdaliană, surdomutitate.

Paraclinic: Hb: 21,8 g/dL, Ht: 63%, GA=10700/mm^3, PN=84%, GR=9500000/mm^3, Tr=280000/mm^3, CRP prezent, sumar urină: albumină prezentă, în sediment frecvenţi uraţi de sodiu, rare leucocite.

ECG la internare: Fc - 110/min, AQRS +150° (axă la dreapta), PQ=0,16 sec (limita superioară) - suprasolicitare atrială dreaptă, unde T ample simetrice, ascuţite în toate derivaţiile, aspect QS în V1, QT =0,36 sec (alungit) (fig. 1).

Radiografia toracică la internare: cord global mărit de volum, desen interstiţial estompat în ambele hemitorace (fig. 2).

Diagnosticul iniţial a fost: stenoză aortică valvulară şi subvalvulară, cardiomiopatie hipertrofică, hipertensiune arterială pulmonară severă, pneumonie interstiţială, surdomutitate.

S-a instituit imediat tratamentul medicamentos: tonice cardiace, oxigenoterapie, antibioticoterapie, diuretice.

În ziua internării pacienta instalează brusc algii precordiale asociate cu transpiraţii profuze, agitaţie psihomotorie, tahicardie (Fc - 112/min), TA dificil de evaluat. Se repetă examinarea ECG (fig. 3), care arată prezenţa unui ritm sinusal, axă dreaptă QRS la 150°, PQ - 0,28 sec (bloc AV gradul I), unde P cu aspect de suprasolicitare biatrială, aspect QS în DI şi aVL, segment ST supradenivelat 10mV, aspect de infarct anterolateral.

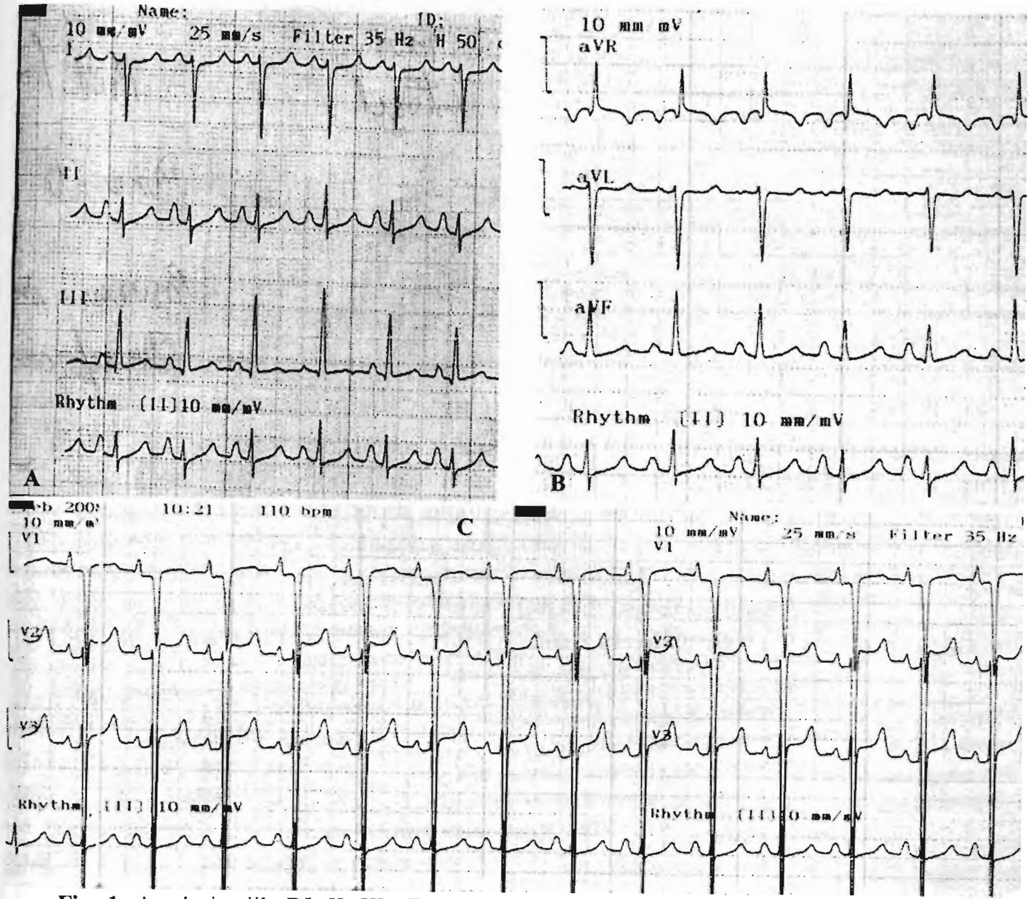


Fig. 1. A - derivaţiile DI, II, III; B - derivaţiile aVF, aVR, aVL; C - derivaţiile V1-V6

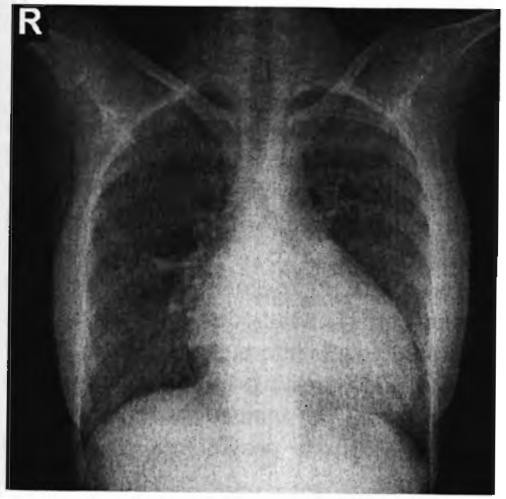


Fig. 2. Radiografie cardio-pulmonară incidenţa postero-anterioară

Se instituie perfuzia cu trinitrosan dar la 2 minute prezintă stop cardiorespirator, care este resuscitat prin masaj cardiac extern, administrare de miofilin şi adrenalină, intubaţie orotraheală, defibrilări repetate. Ulterior, după 30 de minute, pacienta prezintă un nou episod de stop cardio-respirator, care nu a mai răspuns la manevrele de resuscitare, fiind pronunţat decesul.

DISCUŢII

Infarctul miocardic la vârste pediatrice este o patologie rară. În mod frecvent, în

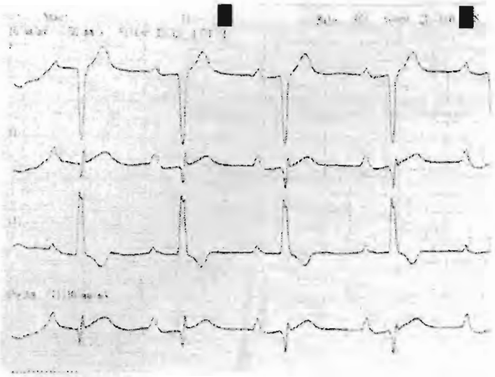


Fig. 3. Traseu EKG - infarct anterolateral

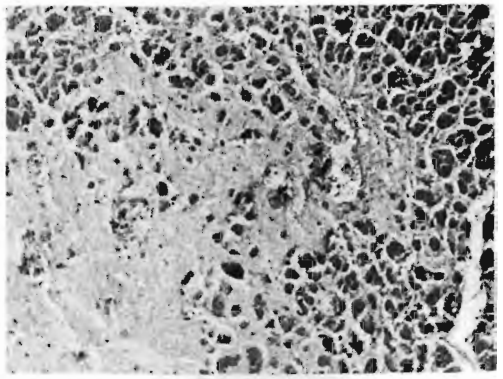


Fig. 4. Cicatrice fibroasă, zone de infarct recent

conformitate și cu datele din literatură, etiologia infarctului miocardic la copil este reprezentată de sindromul Kawasaki (1,2), ALCAPA (Anomalous origin of the Left Coronary Artery from the Pulmonary Artery) (3) sau după chirurgia cardiacă pentru anomalii cardiace congenitale. În cazul prezentat ecocardiografia inţială efectuată în 2003 evidenţiase deja o stenoză aortică valvulară şi subvalvulară asociată cu cardiomiopatie hipertrofică concentrică. Pacientei i s-a recomandat la momentul respectiv continuarea explorarii în clinica de chirurgie cardiacă şi eventual recontrol în clinica noastră. Examinarea anatomopatologică efectuată postmortem a evidenţiat la nivel cerebral semne de suferinţă neuronală ischemică asociate unui revărsat limfocitar perivascular sugestiv pentru un debut de encefalită. La nivel pulmonar pacienta prezenta modificări specifice pentru hipertensiunea pulmonară (hemoragii, respectiv leziuni plexiforme ale tunicii musculare a arterelor). Semne de stază au fost evidenţiate în egală măsură si la nivelul splinei, ganglionilor şi a rinichilor.

De o importanţă deosebită a fost examinarea macro şi microscopică a leziunilor cardiace. La examenul macroscopic se constată o mărire globală de volum a cordului, stenoză la nivelul emergenţei aortei, hipertrofie concentrică a miocardului atât la nivelul ventriculului stâng cât şi a ventriculului drept. Alte modificări constatate au fost ateromatoza aortică şi persistenţa canalului arterial. Examinarea microscopică a evidenţiat focare recente de hemoragie atât la nivelul miocardului cât şi la nivelul pericardului însoţite de degenerescenţă vacuolară subendocardică, modificări de endocardită (infiltrat cu limfocite şi PMN). Modificările elocvente sunt însă la nivelul miocardului unde se constată zone de cicatrice fibroasă alături de zone de infarct recent precum şi hipertrofia fibrelor de miocard (fig. 4) .

PARTICULARITĂŢI ALE CAZULUI

Pacienta prezintă un caz particular, deosebit de dificil, datorită asocierii unor malformaţii congenitale cardiace (stenoză aortică congenitală, persistenţă de canal arterial, anomalie de origine de arteră coronară stângă) cu cifoză, distrofie retiniană (sindrom Stargard) la care s-au supraadăugat, aparent concomitent, o pneumonie interstiţială şi endocardita infecţioasă. Este discutabil dacă infarctul miocardic masiv produs şi diagnosticat la ultima internare a fost favorizat de minima decompensare respiratorie sau de dezvoltarea endocarditei infecţioase.

BIBLIOGRAFIE

1. Atsuko S, Tetsuro K, Yasuo O, Toru K, Masahiko O. Myocardial ischemia in Kawasaki disease: Follow-up study by cardiac catheterization and coronary angiography. *Pediatric Cardiol* 1988; 9 (1): 1-5.
2. Hirohisa K. Cardiovascular complications in Kawasaki disease: coronary artery lumen and long-term consequences. *Prog Pediatric Cardiol* 2004; 19: 137-145.
3. Grosse-Wortmann L, Wenzl T, Hoevels-Guerich H. Anomalous origin of the left coronary artery from the pulmonary artery in a premature infant with preserved left ventricular function. *Pediatric Cardiol* 2006; 27 (2): 269-271.
4. Limsuwan A, Khowsathit P, Pienvichit P. Left main coronary occlusion from Takayasu arteritis in an 8-year-old child. ***Pediatric Cardiol*** 2007; 28 (3): 234-237.

NOUTĂŢI

AFECŢIUNILE PARODONTALE LA COPII ŞI ADOLESCENŢI

Copiii şi adolescenţii sunt supuşi multor afecţiuni parodontale. Deşi prevalenţa afecţiunilor parodontale distructive este mai redusă la copii decât la adulţi, copiii pot contracta forme severe de parodontită marginală. În unele cazuri, aceste leziuni distructive reprezintă manifestarea unor afecţiuni sistemice de bază. În cazul altor pacienţi tineri, cauza fundamentală pentru creşterea susceptibilităţii şi instalării precoce a afecţiunii este necunoscută. Aceste afecţiuni sunt frecvent familiale, sugerând o predispoziţie genetică pentru o afecţiune agresivă. Modalităţile curente de management al afecţiunilor parodontale la copii şi adolescenţi cuprind terapia cu antibiotice, în combinaţie cu tratamentul nechirurgical şi/sau chirurgical. Deoarece diagnosticul precoce asigură cea mai mare şansă de succes terapeutic, este important ca pacienţilor copii să li se efectueze o examinare parodontală în cadrul controlului periodic stomatologic (*** American Academy of Periodontology-Research, Scicence and Therapy Committee. Periodontal diseases of children and adolescents. *Pediatr Dent* 2008; 30 (7 Suppl): 240-247).

Irina Grădinaru

A FOST REALIZATĂ PRIMA HARTĂ GENETICĂ A OBEZITĂŢII SEVERE

Un grup de cercetători francezi a identificat trei noi gene asociate cu supraponderalitatea europenilor reuşind alcătuirea primei hărti genetice a obezităţii severe. Autorii studiului speră ca noua descoperire să permită identificarea timpurie, încă din copilărie, a persoanelor cu risc de obezitate severă, afecţiune cu incidenţă în creştere alarmantă în aproape toate ţările. Au fost analizate cele mai susceptibile mutaţii genetice responsabile cu apariţia obezităţii pe un eşantion format din 14.000 de persoane (din Franţa, Elveţia, Germania şi Finlandafrancezi, elveţieni, germani şi finlandezi); cercetătorii au confirmat că două gene (FTO şi MC4R) joacă un rol major în apariţia obezităţii şi a supraponderalităţii. Aceste două gene acţionează prin controlarea comportamentului alimentar. Ulterior, au fost descoperite alte trei gene asociate cu riscul de obezitate severă şi supraponderalitate - MAF, PTER şi NPC1. O altă genă, PRL, este asociată cu obezitatea la adulţi. Această genă produce prolactină, un hormon ce controlează apetitul (Meyre D et al. Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations. *Nature Genetics* 2009; 41: 157-159).

Camelia Cojocaru

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

A COMPUTERIZED DATA ANALYSIS METHOD FOR ELECTROGASTROGRAPHYC SIGNALS

A. Brezulianu[1], Monica Fira[2], E. Gazzi[3], L. Şorodoc[3]
"Gh. Asachi" Technical University of Iaşi
School of Electronics
1 Telecommunications and Information Technology Department
2 Institute for Computer Science Iasi
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medicine
3 "Sf. Ioan" Emergency Hospital Medical Clinic

A COMPUTERIZED DATA ANALYSIS METHOD FOR ELECTROGASTROGRAPHYC SIGNALS (Abstract): Many recent studies showed that EGG signal can be used to diagnose and monitor patients with gastric motility disorders. **Material and method**: This paper presents the way to record and process the EGG signal, and the results of study on a sample of 10 patients. These patients are initially evaluated by upper endoscopy were are normal without gastric motility dysfunction or some gastric lesions. The EGG signals are obtained with the surface electrodes placed along the projection of the stomach axis on the abdomen, amplified with an electrogastrogram amplifier module and analyzed on a personal computer. The used signal analysis method is based on spectral analysis of EGG signals. **Results**: This method showed a normal gastric activity for seven patients of the sample and a gastric dysryhthmia for three of them. **Conclusion**: The computerized spectral analysis of electrogastrography signals proves to be a non-invasive, high sensitive, reproducible and cost-effective method for the diagnosis of gastric dysrhythmias and normal gastric electrical rhythm even in sub clinical patients. **Key words**: ELECTROGASTROGRAPHY, SIGNAL PROCESSING, GASTRIC DYSRHYTHMIA

Electrogastrography (EGG) is a non-invasive technique for recording gastric myoelectrical activity (*GMA*) with cutaneous electrodes placed along the projection of the stomach axis on the abdomen. The surface recording obtained with electrogastrography is called the electrogastrogram (1). Gastric myoelectrical activity consists of slow waves and spikes. The frequency of the normal slow wave is about 3 cycles per minute (cpm) in humans. In abnormal cases, gastric slow wave may have a frequency that is too high (*tachygastria 4-9 cpm*) or too low (*bradygastria 0-2 cpm*). *Gastric dysrhythmia* is a term standing for various abnormalities in slow-wave rhythmicity, including tachygastria, bradygastria, and arrhythmia (no dominant rhythmicity) (2).

MATERIAL AND METHOD

For the study we needed the following equipment: a computer-based data acquisition system (BIOPAC Systems MP150), an electrogastrogram amplifier module-EGG 100C, multiple surface electrodes (MEC 110C), a personal computer to analyze the EGG data (using Matlab package), a quiet room, and some patients witch were selected by upper endoscopy criteria.

The EGG100C amplifies the electrical signal resulting from stomach and intestinal smooth muscle activity.

The number of patients receiving the signal collected EGG is 10 (6 women and 4 men), all were initially considered as healthy (with normal upper endoscopies) (4).

As a result of the nature of cutaneous measurement, the EGG is vulnerable to motion artifacts. Accordingly, a careful and proper preparation before the recording is crucial to obtain reliable data (1).

Preparing the Skin

The abdominal surface where electrodes are to be positioned should be shaved if necessary, cleaned, and abraded with some sandy skin-preparation jelly in order to reduce the impedance between the bipolar electrodes to below 10 kO. The EGG may contain severe motion artifacts if the skin is not well prepared.

Placing the Electrodes

Electrodes are placed on the skin surface of the epigastrium over the general area of the antrum of the stomach. EGGs are obtained with electrodes arranged for bipolar recordings. A reference electrode is positioned on the right side of the subject's abdomen. One active electrode should be placed approximately 10 cm cephalad from the umbilicus and 6cm to the subject's left. It is important to place this electrode below, and not on, the lowest rib to avoid respiratory signals. The second active electrode should be placed approximately 4 cm above the umbilicus (midway between the umbilicus and xiphoid) on the midline of the abdomen. The reference electrode is placed 10 to 15 cm to the right of the midline electrode, usually along the midclavicular line and 2 to 3 cm below the lowest anterior rib on the right side. The recording sites selected depend on the nature of the EGG signal desired (3,4).

Positioning the Patient

The subject must be in a comfortable supine position (because is more relaxed in this position), in a quiet room throughout the study. The subject should not be engaged in any conversation and should remain as still as possible to prevent motion artifacts.

Appropriate Length of Recording and Test Meal

The EGG recording is usually performed after a fast of 3 hours or more with discontinuation of all drugs known to alter gastric motility for at least 48 hours before the test. It should be recorded for 15 min or more in the fasting state and for 15 min or more after a test meal.

Analyzing the EGG

Like the other surface electrophysiological recordings, the EGG is a combination of the gastric signal and noise (tab. I).

The noise consists of respiratory artifacts, interference from the small bowel, the ECG, and motion artifacts. The noise was been eliminate of using conventional low-pass filtering. Then, the EGG data was analyzed using Matlab package running on a personal computer. A sampling frequency of 200 Hz was used. The EGG analysis is based on the fast Fourier transform (FFT) technique. A data period of 4 min is analyzed and termed an FFT line. This data period represent a moving window of 1

TABLE I
Composition of the EGG Recording

	Components	Frequency (cpm)
Signal	Gastric slow waves	0.5–9.0
Noise	Respiratory	12–24
	Small bowel	8–12
	ECG	60–80
	Motion artifacts	Whole range

min. The dominant frequency for each FFT line is calculated and consecutive data periods are displayed by running spectrum analysis. The dominant frequency is calculated as the highest peak of the mean FFT line for a given period (5,6,7). Important EGG parameters include dominant frequency and power, fasting-fed power ratio, percentage of normal gastric slow waves, percentage of gastric dysrhythmias, and percentage of power distribution. Each of the parameters is described in detail below (8,9).

Dominant frequency

The frequency believed to be of gastric origin and at which the power in the power spectrum has a peak value is called the dominant frequency and is expressed in cpm.

Power Ratio or Relative EGG Power Change

One of the commonly used EGG parameters associated with the EGG dominant power is the power ratio (PR) or the relative change of EGG dominant power after an intervention such as meal, water, or medication. The EGG power can be presented in linear or decibel (dB) units.

Percentage of Normal Gastric Slow Waves and the Percentage of Dysrhythmias

It is defined as the percentage of time during which normal gastric slow waves are observed in the EGG.

Percentage of EGG Power Distribution

Is defined as the percentage of total power in a specific frequency range in comparison with the power in the total frequency range from 1 cpm to 15 cpm. This parameter is sensitive to noise, because any noise component in the frequency band of 1 cpm to 15 cpm affects the computation of this parameter.

RESULTS

The study was performed on 10 patients (6 female and 4 male; age 45.6 ± 11.7 years, height 167 ± 6.9 cm and weight 74.7 ± 16.09 Kg) with the normal upper endoscopies. The EGG records were collected and processed according to specifications outlined above. There was a normal gastric activity for 7 patients, a gastric activity of 3 cpm before a test meal, with conserved frequency but increased amplitude for the gastric activity after a test meal, and a gastric dysrhythmia activity for the other three patients.

DISCUSSION

An example of a patient with a normal gastric activity is presented in figure 1. In the left site, 3D spectral analysis plot is shown and in the right site, 2D spectral analysis plot is represented (with red line it is represented the period before a test meal and, with blue line, the period after a test meal). Even in normal subjects, the percentage of normal EGG activity computed in this way will never be 100%.

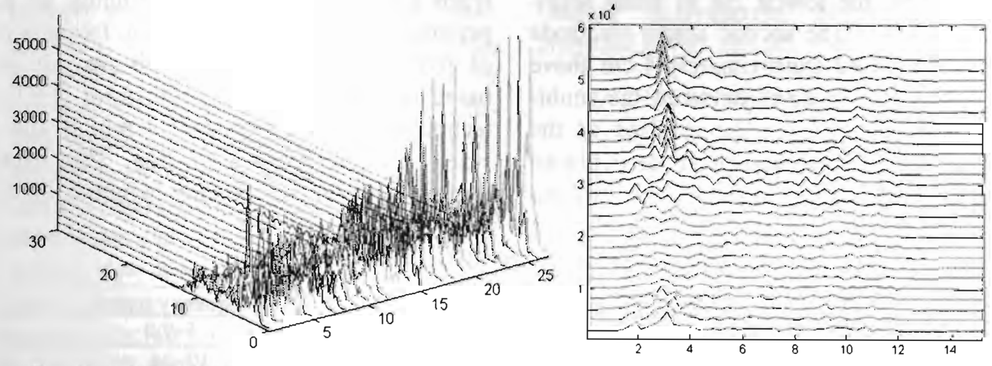


Fig. 1. A 3D and 2D representation of an analyzed EGG in a normal subject. Normal electrical activity between 2 and 4 cpm is present before and after a test meal. Note the low level of activity at approximately 3 cpm before test meal and the increase in power after test meal

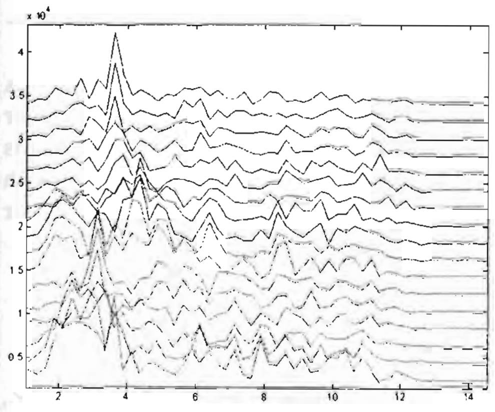


Fig. 2. Gastric dysrhythmia activity before test meal and an increase of the frequency after test meal at 4 cmp

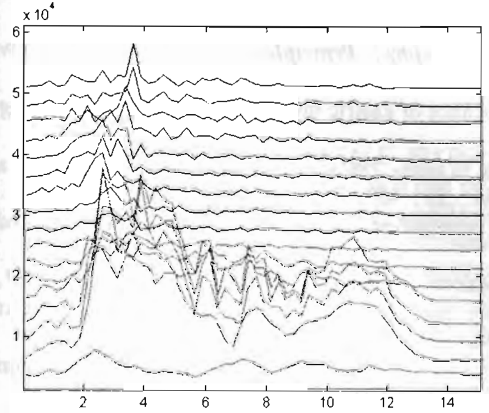


Fig. 4. A major dysrhythmia gastric activity especially before the test meal.

For those 7 normal subjects, an increase in EGG dominant power usually occurs after a test meal.

For the other 3 patients the results of the EGG signals analysis were the following:

- A patient presented a gastric dysrhythmia activity. (fig. 2)
- A patient presented a gastric activity of 3 cpm but we not observed semnificatively amplitude modification before and after test meal (fig. 3).

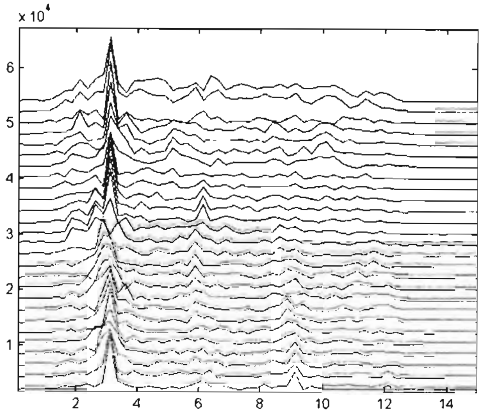


Fig. 3. A gastric activity of 3 cpm before and after test meal. There is an increase in amplitude after test meal, but not significant comparatively with the period before the test meal

- A patient with a gastric dysrhythmia activity before the test meal and a gastric activity of 4 cpm after the test meal (fig. 4).

Clinical studies have shown that upper endoscopies are normal in 40-50% of patients with functional dyspepsia (10). When common gastrointestinal diseases are eliminated as a cause of dyspepsia symptoms, then gastric neuromuscular disorders should be considered as potential causes of these symptoms (11).

Gastric dysrhythmias must be evaluated in order to provide objective diagnoses associated with symptoms of nausea, to predict a better response to prokinetic agents end to demonstrate the improvement in dyspepsia symptoms when corrected.

CONCLUSIONS

Considering the obtained results, we can say that the methodology used to record and process the EGG signal is a non-invasive, reproducible, and cost-effective test for the diagnosis of gastric dysrhythmias and normal gastric electrical rhythm. More than this electrogastrogram may be con-

sidered a clinical tool indicated for patients who have unexplained nausea, bloating, early satiety or other dyspepsia symptoms. EGG could be included in the algorithm for the evaluation and management of the gastric neuromuscular disorders.

Starting from these results, we intend to record, process and analyze a large number of patients with various gastric diseases or conditions that may influence the gastric activity.

Another direction for further study is the influence of different drugs or other external factors on the gastric activity as well as gastric activity correlation with other biological signals, such as ECG or heart rate variability.

REFERENCES

1. Stern RM, Koch KL. Using electrogastrography to study motion sickness. In: Chen JDZ, McCallum RW editors. *Electrogastrography: Principles and Applications*. New York: Raven Press, 1994, 199-218.
2. Holtmann G, Enck P. Stress and gastrointestinal motility in humans: a review of the literature. *J Gastrointest Motility* 1991; 3: 245-254.
3. Chen JDZ, McCallum RW editors. *Electrogastrography: Principles and Applications*. New York: Raven Press, 1994.
4. Chen JDZ, Pan J, McCallum RW. Clinical significance of gastric myoelectrical dysrhythmias. *Dig Dis* 1995; 13: 275-290.
5. Chen JZ, Lin Z. Comparison of adaptive filtering in time-, transforem- and frequency-domain: a electrogastrographic study. *Ann Biomed Eng* 1994; 22: 423-431.
6. Mintchev MP, Bowes KL. Extracting quantitative information from digital electrogastrograms. *Med Biol Eng Computing* 1996; 34: 244-248.
7. Marple LS Jr. *Digital Spectral Analysis with Applications*. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1987.
8. Chen JDZ, Richards R, McCallum RW. Frequency components of the electrogastrogram and their correlations with gastrointestinal motility. *Med Biol Eng Computing* 1993; 31: 60-67.
9. Leahy A, Besherdas K, Clayman C, Mason I, Epstein O. Abnormalities of the electrogastrogram in functional dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1023-1028.
10. Koch KL. Nausea: An approach to a symptom. *Clin Persp Gastroenterol* 2001: 285-297.
11. Koch KL. Unexplained nausea and vomiting. *Curr Treat Op Gastroenterol* 2000; 3: 303-313.

NOUTĂŢI

BIOMARKERI PENTRU PREDICŢA RISCULUI DE MORTALITATE CARDIOVASCULARĂ

Un studiu longitudinal (ULSAM), care a urmărit o cohortă de subiecţi vârstnici, a evaluat aportul mai multor markeri biologici (troponina I, NT-pro BNP, cistatina C şi CRP) la stratificarea riscului cardiovascular bazat pe factorii de risc tradiţionali (vârsta, TA sistolică, utilizarea medicaţiei hipertensive, colesterol total şi HDL, tratament hipolipemiant, diebet, tabagism, s.a.). Pe parcursul a zece ani de supraveghere (durata medie) din 1135 de subiecţi incluşi în studiu, 315 (cu vârsta peste 71 de ani la debutul studiului) au decedat, din care 136 prin boli cardiovasculare. Toţi biomarkerii studiaţi au ameliorat predicţia riscului de mortalitate cardiovasculară după ajustare pentru factorii de risc tradiţionali (Zethelius B et al. Use of multiple biomarkers to impruve the prediction of death from cardiovascular causes. *N Engl J Med* 2008, 358 (20): 2172-2174).

Al.D. Ciochină

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

CONSIDERAŢII ASUPRA ETIOPATOGENIEI FISTULELOR DIGESTIVE EXTERNE POSTOPERATORII

Iulia Munteanu[1], S. Ştefan[1], Mirela Sîrbu-Boeti[2], R. Popescu[3],
Ioana Burcoveanu[4], Roxana Topală[4], C. Burcoveanu[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Clinica a III-a Chirurgicală
Centrul de Cercetare în Chirurgia Oncologică şi Training în Chirurgia Generală
Secţia IV Chirurgie
Institutul Clinic Fundeni Bucureşti
2. Centrul de Chirurgie Generală şi Transplant Hepatic
3. Spitalul Clinic Judeţean Constanţa
Universitatea de Ştiinte Agricole şi Medicale "Ion Ionescu de la Brad" Iaşi
Facultatea de
4. Catedra de **Anatomie**

POSTOPERATIVE DIGESTIVE FISTULAS. ETIOPATHOGENIC CONSIDERATIONS (Abstract): The digestive fistula is one of the most serious complications that might appear following different types of resectional digestive surgery. This condition still carries a considerable morbidity and mortality rate and therefore all surgical and ICU staff pay a great deal of attention and intensify their care to avoid the fatalities. The postoperative digestive fistulas, through their physiopathological and clinical complexity induce the disturbance of the biological equilibrium with vital consequences. The trend of the last decades is the increasing of digestive fistulas incidence with a variable mortality rate after different authors. A therapeutic algorithm is needed. The mortality rate due to digestive fistulas, two decades ago was, around 60%; at the present there is a decrease of the mortality rate, which is around 10%. The explanation is the introduction of the new methods of treatment such as lactic acid lavage aspiration for alkaline fistulas or total parenteral nutrition, continuous enteral nutrition and antiexocrine chemotherapy. A fistula is a communication between two epithelial or endothelial surfaces, lined by granulation tissue. It can be a life-threatening condition. **Key words**: DIGESTIVE FISTULAS, POSTOPERATIVE, NUTRITION

Fistulele digestive externe fac parte din complicaţiile precoce ale chirurgiei digestive; prezenţa destul de constantă a acestei complicaţii în chirurgia digestivă evidenţiază faptul că nu beneficiază încă de un tratament bine codificat.

Fistulele digestive externe post-operatorii înalte prin complexitatea clinico-fiziopatologică ce le caracterizează, prin perturbarea echilibrului biologic al organismului cu consecinţe vitale importante, pot avea un potenţial evolutiv grav, cu costuri de spitalizare mari.

O fistulă digestivă este definită ca o scurgere de lichid digestiv între două suprafeţe epitelializate, prin intermediul unui traiect granulomatos fără perete propriu, pe care şi-l formează şi întreţine. Poate fi definită ca o soluţie de continuitate digestivă ale cărei caracteristici funcţionale orientează terapeutica, cu traiect improvizat, putând fi considerată ca o plagă produsă de lichidul digestiv (1).

Definirea fistulei se restrânge la pierderea etanşeităţii digestive post-operatorii imediate şi în principal cedării (de la relaxare la dezunire) a suturilor realizate în cursul unei intervenţii chirurgicale pe tub digestiv (2).

EPIDEMIOLOGIE

FRECVENŢĂ

Frecvenţa este variabilă cu localizare anastomozei chirurgicale (tab. I). Apariţia unei fistule implică costuri mari ale spitalizării: s-a comunicat spitalizare de 95 de zile pentru o fistulă de intestin subţire şi 40.000 franci cost mediu al spitalizării unei fistule colice (3).

MORTALITATE

Mortalitatea a scăzut; studi-ile statistice relevă în prezent un procent al mortalităţii globale care oscilează în jurul cifrei de 10 % faţă de 60 % cât era în anii 1960-1971. După 1980 se comunică o mortalitate generală de 19,5 %. Această scădere se datorează noilor metode de tratament introduse: tehnicii de irigare cu acid lactic după metoda Trémolières, de nutriţie parenterală a la long cu posibilitatea menţinerii unei balanţe azotate pozitive, tehnica de nutriţie enterică continuă în flux redus şi cel mai recent utilizarea chimioterapiei antisecretorii. În prezent fistula postoperatorie digestivă externă este obiect de studiu clinic, încercându-se reducerea mortalităţii şi mai mult, dacă este posibil sub valoarea de 2%.

TABELUL I

Frecvenţa fistulei postoperatorii anastomotice pe segmentele sistemului digestiv

Chirurgia esofagului cervical	26%
Chirurgia esofagului toracic	4%
Fistula gastrică	2,7%
Fistula duodenală	1%
Fistula enterală	0,3-0,5%
Fistula colo-rectală	8-20%

CLASIFICARE

După criterii clinice:

a) după modul de comunicare a viscerului cu exteriorul:

- cu traiect - comunicarea se face prin traiectul fistulos;
- expuse - la suprafaţă - organul este deschis la perete

b) după poziţia fistulei faţă de organul digestiv:

- laterale (în circuit)
- terminale (bont exclus)

c) după sediul organului în tubul digestiv :

- înalte (esofag, stomac, duoden, jejun proximal)
- mijlocii (enterale, ileo-colice)
- joase (colon-rect)

d) după momentul exteriorizării:

- imediate (2-24 ore)
- precoce (2-15 zile)
- tardive: peste 15 zile
- cronice

e) după debit:

- foarte mari (peste 1000ml/24 h)
- mari (200-1000 ml/24 h)
- mici (sub 200 ml/24 h)

f) după gravitate:

- foarte grave - fistule multiple
- medii
- uşoare

g) după număr:

- unice
- multiple

h) după etiologie:

- benigne
- maligne

Fistulele ce survin pe un teren neoplazic au o proporţie de 48%.

Fistulele multiple au un potenţial de gravitate evolutivă accentuată şi posibilităţi terapeutice dificile de rezolvare.

Este necesar menţionarea fistulelor create de chirurg cu scopul de protecţie a unor anastomoze sau suturi digestive (fistula duodenală dirijată, jejunostomia, cecostomia, fistula colică).

ETIOPATOGENIE

Există condiţii obiective care pot genera apariţia unor fistule post-operatorii, uneori inevitabile.

În etiologia fistulelor digestive întâlnim:

CAUZE IATROGENE

Dezunirea anastomozei este principala cauză de producere a fistulelor digestive.

Principiile unei suturi digestive corecte sunt:

- etanşeitatea perfectă cu fixarea submucoasei, fără ischemizarea peretelui şi o bună afrontare a seroasei (peritonizare);
- evitarea apropierii puncte-lor de sutură sub 0,5 cm care devin ischemiate, sau firele rare, cu priză mică în ţesuturi;
- conservarea unui lumen corespunzător pentru evitarea stenozelor sau îngustării segmentelor digestive;
- asigurarea mobilităţii perfecte faţă de peritoneul parietal a organelor anastomozate sau suturate;
- protejarea viscerelor prin sonde de decompresiune endocavitare care vor fi menţinute până la rezorbţia edemului anastomotic şi instalarea peristalticii (48-72 h);
- evitarea la nivelul suturii a tensiunii longitudinale prin tracţiune şi a celei circulare prin distensia organului;
- evitarea depolisării anselor intestinale în cadrul viscerolizelor, acestea putând genera fistulizări la locul suturii sau la distanţă (periviscerite după intervenţii anterioare).

O tehnică chirurgicală corectă rămane elementul esenţial al obţinerii unor cicatrizări optime. Majoritatea cazurilor cu deficienţe de cicatrizare se datorează şi unor greşeli de tehnică.

Fistula digestivă poate apare în oricare din cele trei perioade post-operatorii :

- perioada post-operatorie imediată (6-24 h)
- perioada post-operatorie precoce (2-12 zile)
- perioada post-operatorie tardivă: fistulele apărute în această perioadă evidenţiază o dehiscenţă mică din perioada precoce complicată cu o colecţie localizată neidentificată la timp; apar după a 12-a zi postoperator.

Agresiunile viscerale per-operatorii, în special asupra intestinului subţire prin deperitonizare sau dilacerare musculară secundară viscerolizei; sunt incriminate în 16% din cazuri ca factori etiologici ai fistulei externe intestinale (4).

Ocluzia mecanică din punct de vedere etiologic este cauza majoră care favorizează apariţia fistulei digestive externe post-operatorii (4).

Ileusul dinamic, urmare inerentă a oricărui act chirurgical care face parte din evoluţia normală a tabloului clinic postoperator din primele 48-72 h trebuie discutat ca element patogenic al fistulei digestive.

Putem concluziona că factorii determinanţi care pot genera apariţia fistulelor digestive ar fi, în ordinea frecvenţei (5):

- ileusul dinamic prelungit nesupravegheat;
- tensiunea circulară prin stagnarea conţinutului în absenţa sondelor de decompresiune;
- leziuni de decubit prin tuburi sau corpi străini uitaţi în peritoneu;
- fixarea accidentală a anselor cu agăţarea lor în timpul de refacere a peretelui;
- explorarea oarbă, brutală, instrumentară sau digitală a plăgilor cu supuraţii profunde având anse fixate la perete prin complicaţii septice locale;
- evisceraţii fixe cu necroze secundare;
- depolisări de anse;
- parazitoze (ascarizi);
- defecte de tehnică în realizarea suturilor digestive.

FACTORI FAVORIZANŢI

1. Anastomoze pe tub digestiv patologic; fistulele digestive post-operatorii survin frecvent în caz de reintervenţie, deci în

contextul existenţei aderenţelor peritoneale (44%) şi adesea într-o intervenţie de urgenţă (57 %) (6).

2. Bolile inflamatorii ale intestinului, în special boala Crohn favorizează fistula.

3. Fistulele survenind pe un teren neoplazic constituie proporţii variabile de la o serie la alta : 6-48% (2,3,6).

4. Ţesuturile iradiate constituie cele mai proaste terenuri pentru obţinerea cicatrizării unei anastomoze.

5. Afecţiunile vasculare sunt esenţiale, în special ateroscleroza arterelor mezenterice prejudiciază cicatrizarea.

6. Infecţia: existenţa unui focar septic intraperitoneal trebuie să conducă în principiu la refuzul efectuării unei anastomoze.

7. Distensia intestinală este un factor fundamental ce fragilizează peretele şi perturbă microcirculaţia.

FACTORI GENERALI

1. Starea generală: vârstă, denutriţie, hipoproteinemie, hipovitaminoză C.
2. Boli asociate: tarele cardio-vasculare.
3. Tratamentul îndelungat cu derivaţi de cortizon.

Sunt studii ce evidenţiază ca factori de risc crescut pentru producerea fistulelor: vârsta peste 60 de ani şi hipoproteinemia preoperatorie.

MORFOPATOLOGIE

Orice fistulă externă, din punct de vedere anatomo-patologic prezintă:

- orificiu aferent: unic, multiplu (A)
- orificiu eferent: unic, multiplu (E)
- traiect fistulos (T).

Orificiul aferent se poate situa la orice segment al tubului digestiv; la nivelul intestinului subţire fistula este cu atât mai gravă cu cât orificiul aferent este mai proximal situat şi debitul este mai important.

Orificiul aferent poate fi unic sau multiplu, sau pot fi unite mai multe la un loc, în buchet.

Orificiul eferent - extern, poate fi unic sau multiplu, localizat cel mai frecvent la nivelul cicatricei post-operatorii care poate fi mai mult sau mai puţin dezunită, sau la nivelul orificiului unui tub de dren.

Enzimele proteolitice conţinute în lichidul fistulizat determină necroza epidermului şi roşeaţă locală.

Traiectul fistulos se poate aprecia prin studiul drenajului lichidului digestiv la exterior; constituirea traiectului fistulos este precedată de cloazonarea peritoneală şi acolarea viscerelor abdominale sub acţiunea corozivă a lichidului digestiv; ţesuturile care fac oficiul unui "neo-perete" pentru acest traiect sunt sediul unei reacţii inflamatorii granulomatoase; acest traiect, mai mult sau mai puţin lung, neregulat, poate alimenta colecţii intraperitoneale ce nu se drenează şi reprezintă focare septice intraperitoneale ce complică maladia iniţială. Traiectul intermediar poate fi mai lung în fistulele cu traiect intern, sau foarte scurt, practic inexistent în fistulele fără traiect intern sau fistulele expuse.

Modificările anatomo-patologice care au loc la nivelul orificiului fistulos se datorează activităţii triptice a sucurilor digestive.

Anatomopatologic, tabloul local poate îmbrăca aspecte diferite în funcţie de tipul fistulei, de natura organului, de condiţiile preexistente actului chirurgical, de durata perioadei prefistulare care se interpune între operaţie şi exteriorizarea fistulei. Semnele locale de iritaţie peritoneală, de "peritonism" au o importanţă deosebită, necesitând supravegherea permanentă a plăgii şi debridarea ei de urgenţă.

Orice fistulă este mai simplă la început, înainte de a se asocia elementul septic; deseori se mizează mult pe tuburile de dren care în numai 1/4 din cazuri vor putea evacua eventualele colecţii perianastomotice; în rest acestea fuzează excentric şi infectează progresiv plaga, dinspre profunzime spre suprafaţă.

Scurtarea perioadei prefistulare prin debridarea precoce a plagii constituie cea mai corectă conduită pentru a putea evita agravarea unei dehiscenţe viscerale cu evoluţie torpidă nerecunoscuta la timp.

TABELUL II
Compoziţia în electroliţi a fluidelor digestive

Fluid	Conţinut de electroliţi (mEq/L)							
	Na^+	K^+	H^+	Cl^-	HCO_3^-	Proteine	PO_4^-	SO_4^-
Plasmă	142	4,5	...	100	25	16	2	1
Suc gastric								
Hiperaciditate	45	30	70	120	25	...	...	...
Hipoaciditate	100	45	0,015	115	30	...	...	...
Suc intestinal	120	20	...	110	30	...	...	...
Bilă	140	5	...	...	40	...	...	...
Suc pancreatic	130	15	...	...	80	...	...	...
Fluid intracelular	10	150	...	5.00	10	60	100	20

CARACTERISTICI FUNCŢIONALE

Debitul fistulei : este "raţiunea" de a fi a fistulei; evoluţia sa zilnică permite controlul eficacităţii protocolului terapeutic, deci are o valoare prognostică certă. Toţi autorii consideră că o fistulă cu un debit de 200 ml/24 h constituie o valoare de la care se consideră fistulele cu debit înalt. Debitul fistulei este mai important decât posibila origine înalta a fistulei (duoden sau jejun); prin debitul fistulos se realizează o deperdiţie importantă de electroliţi, proteine, lipide, vitamine.

Toxicitatea lichidului fistulos: toate secreţiile digestive posedă o activitate tripsinică; corozivitatea lichidului se exercită atât asupra pielii cât şi asupra peritoneului ca şi asupra orificiului aferent pe care îl poate mări.

Septicitatea lichidului fistulos: toate secreţiile digestive sunt parţial contaminate de flora digestivă; această contaminare este cu atât mai masivă cu cât soluţia de continuitate este mai distală, excepţie făcând doar esofagul a cărui conţinut este septic.

Consecinţe nutriţionale: variază în funcţie de nivelul orificiului aferent; sunt minore pentru o fistulă colică, dar pot deveni foarte importante pentru o fistulă jejunală.

Cauzele denutriţiei se combină în proporţii variabile: deperdiţia lichidelor digestive, maldigestia prin pierderea sărurilor biliare, a sucului pancreatic, malabsorbţia prin excluderea relativă sau totală a intestinului situat dedesubtul fistulei sau situarea în lateral, infecţia, sunt foarte frecvent asociate şi cresc considerabil riscul chirurgical.

EVALUAREA STATUSULUI BIOLOGIC

Pentru instaurarea unei terapii nutriţionale adecvate primul gest necesar este evaluarea statusului nutriţional. Cel mai frecvent hipercatabolismul care însoţeşte fistula este atât proteic cât şi energetic conducând la dezechilibre multiple.

Dezechilibrele hidro-electrolitice

Cele mai frecvent întâlnite şi cu apariţie mai precoce sunt dezechilibrele hidroelectrolitice.

Conţinutul în electroliţi este variabil în secreţiile tubului digestiv (tab. II, III).

Există zilnic o pierdere obligatorie de

TABELUL III
Volumele fluidelor tractului gastro-intestinal

Fluid	Volum (mL/zi)
Salivă	1500
Secreţii gastrice	2500
Bilă	500-1500
Suc pancreatic	700
Secreţii intestin subţire	3000
Total	8200-9200

TABELUL IV

Necesarul şi pierderile zilnice de fluide şi electroliţi

Substanţa	Pierderi/24 h				Necesar/24h/ kg de greutate
	Urină	Piele	Plămân	Total	
Apă	1200-1500 mL	200-400 mL	500-700 mL	2300-2600 mL	35 mL
Sodiu	100 mEq	40 mEq/L	...	80-100 mEq	1 mEq
Potasiu	100 mEq	...	...	80-100 mEq	1 mEq
Clor	150 mEq	40 mEq/L	...	100-150 mEq	1,5 mEq
Bicarbonat	...	...	...	40 mEq	0,5 mEq

TABELUL V

Nevoile minime zilnice şi toleranţa maximală

Substanţa	Toleranţa maximală	Minim vital	Nevoi medii
Apa (mEq/24 h)	5000,00	1200,00	2500,00
Na (mEq/24 h)	450,00	20,00	80,00
K (mEq/24 h)	400,00	20,00	80,00
Cl (mEq/24 h)	100-250	f. variabil	f. variabile

apă şi săruri minerale care persistă chiar şi atunci când organismul nu este privat de aport (tab. IV). Nevoile minime zilnice şi toleranţa maximală la adultul sănătos sunt rezumate în tabelul V.

Dezechilibrele hidro-sodate

Mai importante sunt deficitele de apă şi sodiu; pierderile anormale postoperatorii se fac mai ales pe cale digestivă, renală şi uneori pe cale cutanată sau pulmonară.

Diagnosticul evaluării perturbărilor hidrosodate se face pe baza anamnezei şi examenului clinic.

Semnele funcţionale (sete, crampe musculare, astenie) şi examenul clinic sistematic complet (pliul cutan, starea mucoaselor, tonicitatea globilor oculari, turgescenţa venelor, circulaţia periferică, tensiunea arterială, frecvenţa cardiacă) permit punerea diagnosticului.

Importanţa măsurării presiunii venoase centrale subliniază valoarea sa în diagnosticul unei hipovolemii şi interesul practic în supravegherea tratamentului la bolnavul operat sau cu pierderi lichidiene mari.

EVALUAREA MALNUTRIŢIEI

Pentru a evalua depozitele de "combustibil" ale corpului omenesc pot fi utilizate tehnici variate.

La examenul fizic malnutriţia este sugerată de prezenţa edemelor, de persistenţa pliului cutanat, peteşii şi echimoze, scăderea masei musculare, leziuni gingivo-dentare hemoragice, hepatomegalie, tahicardie.

Măsurările antropometrice sunt cele mai simple, dar sunt imprecise.

Înălţimea şi greutatea sunt indici simplu de măsurat şi se compară cu tabelele standard corectate pentru vârstă, sex şi înălţime.

Pliul cutanat al tricepsului, PCT, evidenţiat la jumătatea distanţei dintre acromion şi olecran, comparat cu valorile standardizate asigură o estimare a depozitelor subcutanate; este de 19 mm la femei şi 11 mm la bărbaţi. Masa musculară scheletală, depozitul cel mai mare de proteine din corp, poate fi evaluată măsurând circumferinţa muşchilor braţului C.M.B., evaluată cu ajutorul circumferinţei mijlocului braţului în cm (C.B.) şi P.C.T. în mm.

C.M.B. (cm) = C.B. (cm) - 0,314 x P.C.T.

Valoarea normală este de 21 cm pentru femei şi 26 cm pentru bărbaţi; un indice mai mic de 70 % din valoarea normală indică o malnutriţie severă.

Măsurătorile biochimice

În timp ce masa musculară scheletică reflectă starea proteinelor somatice, concentraţiile proteinelor plasmatice: albumina, transferina, retinolul - proteină de legătură, prealbumina pot fi utilizate pentru a evalua starea nutriţională şi răspunsul la alimentaţie; interpretarea marquerilor proteici nutriţionali trebuie făcută în funcţie de tipul de înjumătăţire şi de interferenţa cu sindromul inflamator (tab. VI).

TABELUL VI

Proteine viscerale utilizate în aprecierea stării de nutriţie

Proteine	Timp de înjumătăţire (zile)	Normal	Malnutriţie		
			uşoară	moderată	severă
albumină	18,00	3,5-5,5g/dL	3,0-3,5	2,1-3,0	<2,1

La un bolnav cu o fistulă digestivă postoperatorie consecinţele nutriţionale ale denutriţiei instalate se pot combina în proporţii variabile. La aceşti bolnavi, uneori cu dezechilibre metabolice accentuate, pasul esenţial în formularea unui program de susţinere nutriţională este stabilirea cerinţelor de proteine, energie şi micronutriendi.

În momentul constituirii unei fistule atât chirurgul cât şi reanimatorul trebuie să decidă dacă se impune sau nu reintervenţia chirurgicală, cât poate fi temporizată şi când este momentul acesteia, dacă primul gest terapeutic este cel conservator, ce metodă de nutriţie să aleagă, dacă se face tratament local.

Pentru toate echipele de chirurgi şi nutriţionişti este foarte importantă ierarhizarea corectă a diverselor scheme terapeutice în scopul închiderii spontane a fistulei şi scăderii mortalităţii.

MULŢUMIRI

Acest studiu a rezultat în urma activităţii de cercetare finanţată în cadrul contractului 42145/15.09.2008, categoria de proiect: PC. - Ministerul Educaţiei, Cercetării şi Tineretului, Centrul Naţional de Management Programe, Programul Parteneriate în Domeniile Prioritare,

BIBLIOGRAFIE

1. Marescaux J, Evrard S, Miranda E. Traitment actuel des fistules digestives postoperatoires. *Rev Pract* 1991; 41 (1): 60-66.
2. Marshall JC, Christon HV, Meakins JL. The gastrointestinal tract. The undrained abcess of multiple organ failure. *Ann Surg* 1993; 218: 111-119.
3. Sitges-Serra A, Guirao X, Pereira JA, Nubiala P. Treatment of gastrointestinal fistulas with Sandostatin. *Digestion* 1993; 54 (suppl.1): 38-40.
4. Millat B, Hay JM, Valleur P, Fingerhut A, Fagniez PL. The French Association for Surgical Research - Emergency surgical treatment for bleeding duodenal ulcer. Oversewing plus vagotomy nerves gastric resection, a controlled randomized trial. World J Surg 1993; 17 (5): 568-574.
5. Roşca M. *Fistulele digestive externe post-operatorii*. Cluj-Napoca: Ed. Dacia, 1983.
6. Munteanu I, Andriescu L. *Riscul fistulei digestive post-operatorii externe înalte*. Iaşi: Ed. Cermi, 1998, 69-72.
7. Mircea N. *Tehnici de abord venos în practica medicală*. Bucureşti: Ed. Baricada, 1993, 103-106.
8. Neagoe G, Neagoe O. *Tratamentul actual al fistulelor digestive externe*. Drobeta Turnu Severin: 2001.
9. Moriura S, Kobayashi I, Ishiguro S, Tabata T, Yoshioka Y, Matsumoto T. Continuous mattress suture for all hand-sewn anastomoses of the gastrointestinal tract. *Am J Surg* 2002; 184: 446-448.
10. Se KH, Hyoung JK. Interventional management of gastrointestinal fistulas. *Korean J Radiol* 2008; 9: 541-549.
11. Moreno Gonzales E. Optimizing the treatment of upper gastrointestinal fistulas. *Gut* 2002; 49: 21-28.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

THE ENDOVAGINAL ULTRASOUND FINDING OF A THIN AND REGULAR ENDOMETRIUM IS UNCOMMON IN ENDOMETRIAL CANCER

Daniela Mihaela Dumitru[1], **M. Onofriescu**[2], **A. Cărăuleanu**[2], **Doiniţa Rădulescu**[3]
"Cuza Vodă" Hospital of Obstetrics and Gynecology Iaşi
1. Ist Clinic of Obstetrics and Gynecology
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medicine
2. Ist Clinic of Obstetrics and Gynecology
3. Department of Morphopathology

THE ENDOVAGINAL ULTRASOUND FINDING OF A THIN AND REGULAR ENDOMETRIUM IS UNCOMMON IN ENDOMETRIAL CANCER (Abstract). **Aim**: To present the clinical and ultrasound features in patients with endometrial cancer in whom the endometrial thickness was less that 5 mm. **Method**: Retrospective study on 263 patients with endometrial carcinoma in whom the ultrasound evaluation of the endometrium was performed. The features noticed in the patients with endometrial thickness below 5 mm are presented. **Results**: In 249 (94.68%) of our patients with endometrial carcinoma the mean endometrial thickness was 15 mm. In 14 patients (5.32%), in whom biopsy was performed prior to ultrasound examination, endometrial thickness was less than 5 mm. **Conclusions**: A thin and regular endometrium (below 5 mm) rules out an endometrial carcinoma provided that no biopsy has been performed within 3 months before ultrasound examination. **Key words**: ENDOMETRIAL CARCINOMA, TRANSVAGINAL ULTRASOUND

Transvaginal ultrasound is the method for the early detection of endometrial malignancy. It is a non-invasive method that should be the first to be performed in patients suspected of endometrial disease. A thickened endometrium is associated with a higher risk of endometrial disease, while a thin endometrium at ultrasound is less likely associated with endometrial pathology (1,2,3).

In the postmenopausal woman with vaginal bleeding, endovaginal ultrasound distinguishes an atrophic endometrium from a suspect one, based on endometrial thickness, uniformity of endometrial architecture, and echogenicity (4,5).

Endometrial thickness should be interpreted in relation with menopausal status, it being of 5 mm in the patients with less than 5 years of menopause and 4 mm in those with more than 5 years.

The goal of this study was to present the clinical and ultrasound features in patients with endometrial cancer in whom the endometrial thickness was less that 5 mm.

MATERIAL AND METHOD

This is a 5-year retrospective study (2003-2007) including 263 women diagnosed with endometrial carcinoma who underwent surgery at Ist and IInd Clinics of the Iasi "Cuza Voda" Hospital of Obstetrics and Gynecology.

The size of the uterus was determined at the local examination by combined palpation. Endovaginal ultrasound was performed in all 263 women, and the data on endometrial thickness were taken from patients' files.

The total endometrial thickness was measured by transvaginal ultrasound in the sagital plane, including any area of focal thickening. The endometrium was visualized from the cervical canal to the fundus of the uterus and from cornu to cornu. The files of all patients were examined thoroughly as to their history, clinical signs, menopausal status and previous endometrial sampling within 3 months of the ultrasound examination.

RESULTS

In 205 (77,95%) of our patients of uterus was of normal size (4 to 6 cm), in 27 cases (10,27%) enlarged (over 6 cm), and in 31 cases (11,78%) of small size (less that 4 cm) (fig. 1).

In 249 (94,68%) of the patients the endometrial thickness measured by ultrasound was on average 15 (ranges 5 -65 mm) (table I).

In 14 (5,32%) patients the endometrial thickness on transvaginal ultrasound was less than 5 mm, with an average of 3.5 mm.

All these 14 patients were postmenopausal, aged between 60 and 69 years, mean age 64.64 years, 3 of them being nulliparous. The microscopic examination of the resection specimens revealed various histologic types of endometrial carcinoma (table II). All these patients underwent dilatation

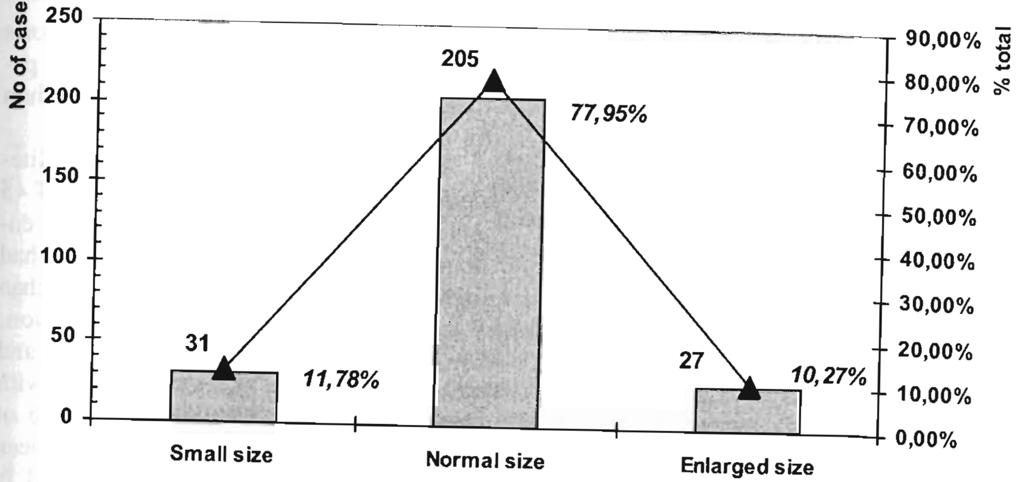


Fig. 1. Distribution and percentage of the cases of endometrial carcinoma in relation with the size of uterine cavity

TABLE I
Statistic indicators for assessing the endometrial thickness > 5 mm

Statistic indicator	Value (mm)
Mean	15,4791
Mean arithmetic mean error	0,65762
Median	12,0000
Mode (dominant value)	15,00
Standard deviation	10,37708
Variance	107,68384
Rank	60,00
Minimum	5,00
Maximum	65,00

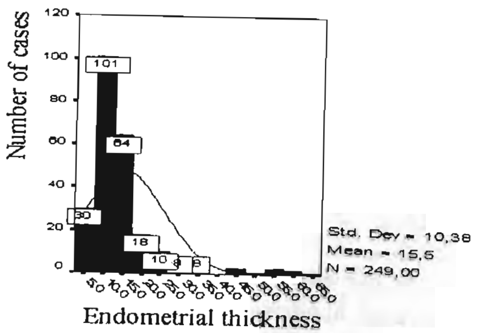


Fig. 2. Distribution of our 249 cases according to endometrial thickness

TABLE II

Distribution of the 14 cases by age, endometrial thickness, and histological type of carcinoma

Case	Age	Endometrial thickness (mm)	Histological type
1	63	4	Endometrioid adenocarcinoma
2	66	4,5	Endometrioid adenocarcinoma
3	60	3	Endometrioid adenocarcinoma
4	68	4	Serous adenocarcinoma
5	69	4	Serous adenocarcinoma
6	63	4,5	Clear-cell adenocarcinoma
7	65	2	Clear-cell adenocarcinoma
8	67	3	Clear-cell adenocarcinoma
9	69	4	Clear-cell adenocarcinoma
10	69	4	Clear-cell adenocarcinoma
11	60	4	Clear-cell adenocarcinoma
12	62	2	Serous adenocarcinoma
13	63	2	Clear-cell adenocarcinoma
14	61	4	Serous adenocarcinoma

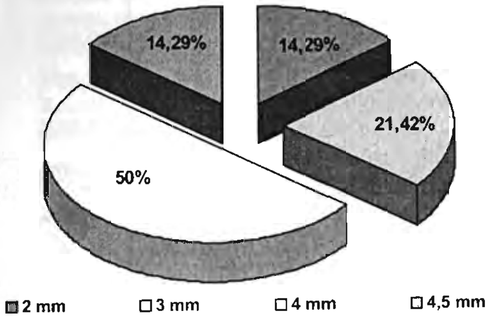


Fig. 3. Distribution of the 14 cases in relation with endometrial thickness

and curettage within less than 3 month of the transvaginal ultrasound.

DISCUSSIONS

Our results support the data in the literature suggesting that endometrial malignancy is rarely associated with an endometrial thickness below 5 mm.

A normal endometrium must be thinner than 5 mm and the endometrial lining must be regular and visible over the entire uterine cavity (6,7). Any focal thickening seen or even suspected on ultrasound has to be considered abnormal, no matter of endometrial thickness (4,8). Likewise, the endometrium should also be considered abnormal if it cannot be evaluated properly (6,9).

In the literature there were few reports of cases of endometrial carcinoma in patients with a thin and regular endometrium on transvaginal ultrasound (5,6,10).

Van den Bosch et al. found in the literature published until 2007 a number of 45 endometrial carcinoma patients with an endometrial thickness below 5 mm who had undergone uterine curettage within less than 3 months before ultrasound examination. These authors evaluated the clinical and ultrasound features of 187 patients with endometrial carcinoma and a mean age of 65.8 years. In 175 of their patients the mean endometrial thickness was 15 mm, and in 13 patients below 5 mm. From the files of these 13 patients it came up that these women had already undergone a biopsy by curettage in other hospitals within less than 3 months prior to preoperative ultrasound.

The authors of these studies recommend that for a correct evaluation of endometrial thickness it is compulsory endovaginal ultrasound to be performed before uterine curettage. It is believed that the diagnosis by dilatation and curettage within less than 3 months before endovaginal ultrasound does not allow a reliable endometrial measurement because a considerable part of endometrial tissue is removed (6,7,8,10).

CONCLUSIONS

Endovaginal ultrasound evaluation of endometrial thickness became a routine method in the diagnosis of endometrial lesions and plays an important role as a screening method for endometrial carcinoma.

An endometrium thicker than 5 mm is associated with an increased likelihood of a precancerous lesion or carcinoma.

An endometrium with less than 5 mm in thickness and regular lining visualized on transvaginal ultrasound rules out an endometrial carcinoma provided no biopsy was performed within less than 3 month before ultrasound examination, as biopsy implies the removal of a substantial part of the endometrium.

If a regular and less than 5 mm-thick endometrium is seen at endovaginal ultrasound in patients at high risk or with recurrent uterine bleeding, the uterine curettage should be performed in order to make a histopathologic diagnosis.

Experienced utrasonographers able to meticulously evaluate the focal alterations in endometrial architecture should perform endovaginal ultrasound. The suspicion of focal lesions or the incomplete visualization of endometrium at endovaginal ultrasound requires an endometrial biopsy.

REFERENCES

1. Amant F, Moerman P, Neven P, Timmerman D, Van Lim-bergen E, Vergote I. Endometrial cancer. *Lancet* 2005 ; 366 : 491-505.
2. Seelbach-Gobel B, Rempen A, Kristen P. Transvaginale ultra-schall am endometrium in der postmenopause. *Gelntelsbilfe Vrauenbeilkd* 1995 ; 55 : 59-64.
3. Karlsson B, Granberg S, Wklartd M et al. Transvaginal ultrasonography of the endometrium in women with postmenopausal bleeding — a Nordic multicentre study. *Am J Obstet Gynecol* 1995 ; 172 : 1488-94.
4. Tongsong T, Pongnarisorn C, Mahanuphap P. Use of vaginosonographie measurements of endometrial thickness in the identification of abnormal endometrium in peri- and postmenopausal bleeding. *J Clin Ultrasound* 1994 ; 22 : 479-482.
5. Gerber B, Krause A, Muller H et al. Effects of adjuvant tamoxifen on the endometrium in postmenopausal women with breast cancer : a prospective long-term study using transvaginal ultrasound. *J Clin Oncol* 2000 ; 18 (20) : 3464-3470.
6. Goldstein SR. The endometrial echo revisited : have we created a monster ? *Am Obstet Gynecol* 2004 ; 191 : 1092-1096.
7. Schramm Th, Kurzi R, Schweighart C, Stuckert-Klein AC. Endometriumkarzinom und vaginalsonographie : unrersuchun-gen zur diagnostischen validität. *Geburtsbilfe Vrauenbcilkd* 1995 ; 55 : 65-72.
8. Tabor A, Watt I IC, Wald NJ. Endometrial thickness as a test for endometrial cancer in women with postmenopausal bleeding. *Obstet Gynecol* 2002 ; 99 : 663-670.
9. Bosch T, Van Schoubreck D, Domali E et al. A thin and regular endometrium on ultrasound is very unlikely in patients with endometrial malignancy, *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007 ; 29 : 674-679.
10. Gull B, Karlsson B, Milsom I, Granberg S. Can ultrasound replace dilatation and curettage. A longitudinal evaluation of postmenopausal bleeding and transvaginal sonographic measurement of the endometrium as predictors of endometrial cancer. *Am Obstet Gynecol* 2003 ; 1SS : 401-408.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

CHIRURGIE **ARTICOLE ORIGINALE**

INVAZIA MIOMETRIALĂ - FACTOR DE PROGNOSTIC ÎN ADENOCARCINOMUL ENDOMETRIAL

D. Mihalcea, D. Aursulesei
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Clinica a IV^{-a} Ginecologie

MYOMETRIAL INVASION AS A PROGNOSTIC FACTOR IN ENDOMETRIAL ADENOCARCINOMA (Abstract): Myometrial invasion is one of the most important prognostic factors in endometrial cancer. **Material and method**: We have studied a cohort of 62 patients with endometrial cancer who underwent surgery in 4-th Gynecology Clinic of "Cuza Vodă" Hospital, Iaşi between 1997-2008. Myometrial invasion was determined intraoperatory by gross visual inspection and frozen section exam and by histopathological exam after surgery. **Results**: We have investigated the relationship between myometrial invasion and other prognostic factors: histological type, grading and lymph node metastasis. In 36 cases the invasion was absent or minimal, and only in a cases the myometrum was completely invaded. **Key words**: MYOMETRIAL INVASION, GROSS VISUAL INSPECTION, FROZEN SECTION EXAM, HISTOPATHOLOGICAL EXAM

Invazia miometrului este un factor prognostic de importanţă majoră, alături de tipul histologic, gradul de diferenţiere, invazia ganglionară şi stadiul bolii.

Gradul invaziei miometriale este un indicator sensibil al virulenţei tumorale. Accesul la sistemul limfatic creşte odată cu invazia miometrului, de unde riscul de diseminare extrauterină şi recurenţe.

Aprecierea invaziei miometriale se poate face preoperator cu ajutorul sonografiei endovaginale şi RMN cu o acurateţe bună. Amploarea invaziei poate fi apreciată intraoperator prin inspecţie după secţionarea uterului, prin examen extemporaneu şi cu maximă precizie prin examenul la parafină al piesei de histerectomie.

MATERIAL ŞI METODĂ

Lotul studiat cuprinde 76 paciente operate în Clinica a IV^{-a} Ginecologie a spitalului "Cuza Vodă" Iaşi în perioada 1 ianuarie 1997- 1 august 2008. Au fost studiate date din foile de observaţie clinică, protocoalele operatorii şi buletinele de anatomie patologică. Diagnosticul de cancer endometrial s-a pus pe baza simptomelor, examenului clinic, echografiei endovaginale şi biopsiei de endometru prin metoda clasică(dilataţie şi chiuretaj uterin fracţionat) şi confirmat de examenul anatomopatologic. Diagnosticul de invazie miometrială s-a stabilit în unele cazuri intraoperator prin inspecţia uterului după secţionare şi a fost stabilită cu precizie prin examen microscopic la parafină.

REZULTATE

Din cele 76 de cazuri incluse în studiu, la 14 cazuri examenul histologic al piesei a arătat absenţa leziunilor maligne şi a invaziei miometriale. La restul de 62 de cazuri, invazia miometrială este reprezentată în tabelul I.

TABELUL I
Invazia miometrială

Invazia miometrială	**Număr de cazuri**
Absentă	13 (20,96%)
<50%	23 (37,09%)
>50%	22 (35,48%)
100%	4 (6,45%)

Remarcăm că la peste jumătate din cazuri invazia miometrială a fost absentă sau minimă; la cele 4 cazuri cu invazia în totalitate a miometrului nu a existat diseminare tumorală la nivel de seroasă.

Aprecierea intraoperatorie a invaziei miometriale şi cervicoistmice se poate face după secţionarea uterului prin inspecţie şi poate fi utilă pentru a orienta asupra tipului de intervenţie chirurgicală optimă (1,2).

Un indicator sensibil al efectului gradului invaziei miometriale este distanţa limitei tumoră -miometru faţă de seroasă: dacă aceasta este mai mică de 5 mm, riscul de recidivă şi deces cresc semnificativ (3).

Noi am practicat secţionarea uterului după histerectomie şi inspecţie în 8 cazuri; în 6 cazuri(75%), profunzimea invaziei apreciată astfel a fost confirmată de examenul la parafină, iar în 2 cazuri invazia apreciată vizual a fost subestimată. Considerăm că metoda este ieftină, rapidă şi poate oferi informaţii utile asupra extensiei miometriale; de indicat este ca procedura să fie efectuată în prezenţa anatomopatologului care va prelucra ulterior piesa în vederea examenului extemporaneu sau la parafină (fig. 1, 2).

Pentru stabilirea cu mai mare precizie a invaziei miometriale se poate efectua examenul anatomopatologic extemporaneu al uterului, profunzimea invaziei fiind utilă pentru a aprecia utilitatea limfadenectomiei, fiind cunoscut faptul că riscul de diseminare limfatică creşte cu invazia miometrului (4). Noi am aplicat această metodă în 6 cazuri, iar aprecierea invaziei miometrului prin examen extemporaneu a coincis în toate cazurile cu examenul la parafină. Considerăm că examenul extemporaneu al uterului, practicat în colaborare cu un anatomopatolog cu experienţă şi disponibilitate, aduce informaţii utile pentru managementul operator al cazului.

DISCUŢII

Invazia miometrului este în relaţie strânsă cu gradul de diferenţiere histologică (tab. II).

Se observă că pentru tumorile bine diferenţiate invazia este absentă sau minimă în 83% din cazuri, în timp ce pentru cele cu diferenţiere redusă, 64% invadează profund miometrul.

Riscul invaziei ganglionilor limfatici creşte direct proporţional cu invazia miometrului. În lotul nostru, din 39 de cazuri la care s-a practicat limfadenectomia selecti-

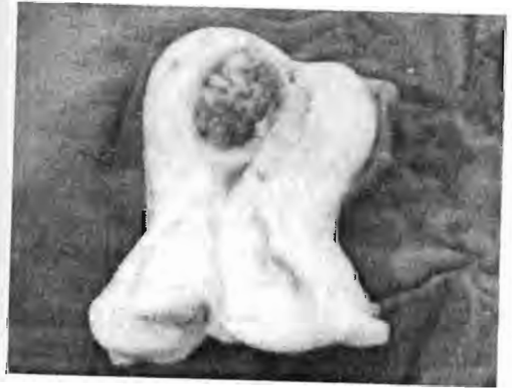


Fig. 1. Inspecţia intraoperatorie

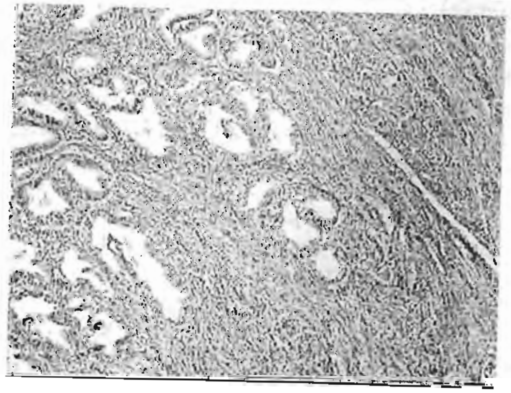


Fig. 2. Adenocarcinomul endometrial cu invazie miometrială (colecţia Clinicii)

TABELUL II

Invazia miometrială funcţie de gradul de diferenţiere

Grad de diferențiere	Invazie absentă Nr. cazuri	<50%	>50%
G1	10	10	4
G2	2	10	12
G3	1	4	9

TABELUL III

Supravieţuirea la 5 ani în stadiul I

Stadiu	Supravieţuire la 5 ani
IaG1	93%
IbG1	88%
IcG1	87%
IaG2	91%
IbG2	93%
IcG2	84%
IaG3	75%
IbG3	82%
IcG3	66%

vă, în 2 cazuri (5,1%) s-a identificat adenopatie malignă: un caz cu cancer seros papilar cu diferenţiere redusă (G3) şi altul cu cancer adenoscuamos cu diferenţiere G1, ambele cu invazie miometrială profundă (>50%).

Împreună cu gradul de diferenţiere, invazia miometrului reprezintă cel mai important factor prognostic pentru cancerul de endometru în stadiul I; relaţia între profunzimea invaziei şi supravieţuirea la 5 ani este redată în tabelul III (5).

Riscul de recurenţă este proporţional cu profunzimea invaziei miometriale în stadiul I (6) (tab. IV).

Riscul recurenOţelor este redus (stadiul IA grad G1,G2), intermediar (stadiul Ia, grad G3, IB, grad G1,G2) şi ridicat (stadiu Ic, grad G3)(7). Cazurile în stadiul I cu risc intermediar şi ridicat trebuie să beneficieze de radioterapie postoperatorie (8,9). Deşi stadiul I (tumora limitată la nivelul corpului uterin) este considerat ca având un prognostic favorabil, prezenţa invaziei miometriale, mai ales profunde, întunecă acest prognostic, mai ales când este asociată şi cu alte elemente predictive negative (tip histologic agresiv, grading tumoral redus), ceea ce face stadiul I o entitate heterogenă din punct de vedere al riscului de recidivă şi chiar al supravieţuirii.

La pacientele din lotul nostru, în 26 de cazuri(34%) invazia miometrială a fost profundă; aceste paciente au fost considerate ca având risc crescut de recurenţe şi li s-a indicat tratament adjuvant (radioterapia externă).

CONCLUZII

Invazia miometrului este un factor prognostic de importanţă majoră în cancerul de endometru.

Este necesar să se aprecieze profunzimea invaziei fie preoperator prin metode imagistice (sonografie endovaginală, RMN), fie intraoperator (inspecţie vizuală, examen extemporaneu) pentru a stabili tipul de tratament chirurgical adecvat.

Pentru cazurile fără invazie miometrială şi alţi factori prognostici agravanţi se poate renunţa la practicarea limfadenectomiei.

Tumorile din stadiul I cu invazie miometrială profundă au indicaţie de radioterapie adjuvantă.

BIBLIOGRAFIE

1. Vorgias G, Hintipas E, Katsoulis M, Kalinoglou N, Dertimas B, Akrivos T. Intraoperative gross examination of myometrial invasion and cervical infiltration in patients with endometrial cancer: decision-making accuracy. *Gynecol Oncol* 2002; 85 (3): 483-486.
2. Franchi M, Ghezzi F, Melpignano M et al. Clinical value of intraoperative gross examination in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2000; 76 (3): 357-361.

3. Pricop M. *Oncologie ginecologică clinică*. Iaşi: Polirom, 2000, 202.
4. Egle D, Grissemann B, Zeimet AG, Müller-Holzner E, Marth C. Validation of intraoperative risk assessment on frozen section for surgical management of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 2008; 110 (3): 286-292.
5. Pecorelli S. FIGO Annual Report, years 1996-98. *Int J Gynecol Obstet* 2003; 83: 95.
6. DiSaia PJ,Creasman WT,Boronow RC,Blessing JA. Risk factors in recurrent patterns in stage I endometrial carcionoma. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151: 1009.
7. Tangjitgamol S, Manusirivithaya S, Lertbutsayanukul C. Adjuvant therapy for early stage endometrial cancer: a review. *Int J Gynecol Cancer* 2007; 17 (5): 949-956.
8. Lee CM, Szabo A, Shrieve DC. Frequency and effect of adjuvant radiation therapy among women with stage I endometrial adenocarcinoma. *JAMA* 2006; 295: 389-397.
9. Keys HM, Roberts JA, Brunetto VL. Phase III trial of surgery with or without adjunctive external pelvic radiation therapy in intermediate risk endometrial adenocarcinoma: a Gynecologic Oncologic Group study. *Gynecol Oncol* 2003; 92:744-751.

NOUTĂŢI

ARE SARCINA IMPACT ASUPRA MICROBIOTEI SUBGINGIVALE?

Un grup de cercetători din cadrul departamentului de Parodontologie al Universităţii de Berna a investigat modificările clinice şi microbiologice subgingivale survenite în timpul sarcinii la 20 femei gravide cu vârste ?18 ani, care nu au primit tratamente stomatologice. Au fost recoltate probe bacteriene din săptămânile 12, 28 şi 36 de sarcină şi de la 4 la 6 săptămâni după naştere. Acestea au fost prelucrate pentru 37 specii utilizând checkerboard DNA-DNA hybridization. Datele clinice parodontale au fost notate în săptămânile 12 de sarcină şi de la 4 la 6 săptămâni după naştere, la situs-urile investigate înregistrându-se sângerarea la sondare. Media valorilor sângerării la sondare în săptămâna 12 şi după naştere a fost de 40,1% +/- 18,2% şi, respectiv 27,4% +/- 12,5%. Media valorilor sângerării la sondare corespunzătoare situs-urilor microbiologice testate a fost de 15% (în săptămâna 12) şi 21%, după naştere (nesemnificativ statistic). Numărul total al bacteriilor a scăzut între săptămâna 12 şi postpartum (P<0,01). Creşterea numărului de bacterii s-a înregistrat pentru *Neisseria mucosa* (P<0,001). Scăderi semnificative ale numărului (P<0.001) au fost constatate pentru *Capnocytophaga ochracea*, *Capnocytophaga sputigena*, *Eubacterium saburreum*, *Fusobacterium nucleatum naviforme*, *Fusobacterium nucleatum polymorphum*, *Leptotrichia buccalis*, *Parvimonas micra*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguinis*, *Selenomonas noxia* şi *Veillonella parvula*. Nu au fost constatate modificări între săptămânile 12 şi 28 de sarcină. Numărul de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* şi *Treponema denticola* nu s-a modificat. Numărul de *P. gingivalis* şi *T. Forsythia,* în săptămâna 12, a fost asociat cu gingivita (P <0.001). Nivelele subgingivale ale bacteriilor asociate parodontitelor nu s-au modificat. Numărul *P. gingivalis* şi *T. Forsythia*, în săptămâna 12, a fost asociat cu sângerarea parodontală la sondare. Din săptămâna 12 până după naştere au fost constatate o scădere la 17 din cele 37 specii şi o creştere numai a numărului de *N. mucosa*. (Adriaens LM, Alessandri R, Spörri S, Lang NP, Persson GR Does pregnancy have an impact on the subgingival microbiota? *J Periodontol* 2009; 80 (1): 72-81).

Irina Grădinaru

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

CHIRURGIE **ARTICOLE ORIGINALE**

CANCERUL MAMAR LA PACIENTA DIABETICĂ

Camelia Cristina Cojocaru[1], **Mihaela Grigore**[1], **Ana Cristina Anton**[1],
Simona Muscă[2], **Gh.Costăchescu**[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1 Clinica a II-a Obstetrică Ginecologie
Maternitatea "Cuza Vodă" Iaşi
2 Laboratorul de Anatomie Patologică

BREAST CANCER IN DIABETIC PATIENTS (Abstract): Many of the risk factors for postmenopausal breast cancer are related to excess estrogen exposure. Hyperinsulinemia associated with type 2 diabetes mellitus may promote breast cancer via increased peripheral production of estrogens and direct mitogenic effect of insulin itself. **Material and methods**: Our retro-prospective study compares breast cancer characteristics between two study groups consisting of 53 diabetic and 391 non-diabetic patients diagnosed and treated for breast cancer. **Results**: Almost 12% of the patients presenting breast cancer were diabetic and menopause occurred at 48.71 years for diabetic patients and at 49.87 years for the non-diabetic ones. Type 2 diabetes mellitus patients were treated by diet and oral agents, had greater body mass index (32.18 kg/m^2), presented well differentiated (57% in G1) but greater (68% in T2) tumors and an increased incidence of lobular (13%) and mixed type (19%) carcinoma. **Conclusions**: Diet and physical exercises as methods for preventing type 2 diabetes mellitus together with screening strategies among diabetic patients could contribute to decreasing the incidence of breast cancer. **Key words**: DIABETES MELLITUS, BREAST CANCER, RISK FACTORS

Cancerul mamar reprezintă o entitate malignă extrem de frecventă la pacientele de sex feminin şi reprezintă a 2-a cauză de mortalitate prin cancer la nivel mondial. Incidenţa crescută a concomitenţei cancer mamar - diabet zaharat tip 2 a ridicat problema existenţei unei asocieri între cele două afecţiuni (1).

Literatura de specialitate demonstrează corelaţia între obezitate şi riscul de cancer mamar postmenopauzal, această relaţie fiind în mod tradiţional atribuită creşterii producţiei periferice de estrogeni, a căror sursă majoră în postmenopauză o constituie ţesutul adipos (2). Hiperinsulinemia şi insulinorezistenţa, întâlnite la pacientele obeze cu diabet zaharat tip 2, pot fi considerate factori de risc ai cancerului mamar (1).

Datorită faptului că insulina este un hormon de creştere, se consideră că hiperinsulinemia cronică a pacientelor cu insulinorezistenţă poate avea un efect cancerigen asupra ţesuturilor sensibile la insulină de la nivelul sânului. Nivelurile crescute de insulină au efect mitogenic asupra ţesutului mamar, iar receptorii insulinici sunt frecvent hiperexprimaţi de către celulele canceroase (3).

Insulinorezistenţa poate iniţia dezvoltarea cancerului mamar şi prin stimularea crescută estrogenică, datorită scăderii nivelurilor circulante de SHBG (sex hormone binding globulin) şi creşterii fracţiei libere IGF 1 (insulin like growth factor 1) (3,4).

Din acest motiv, pacientele cu diabet zaharat tip 2 reprezintă un grup populaţional identificabil în ceea ce priveşte insulinorezistenţa şi hiperinsulinemia. Asocierea dintre diabet şi cancerul mamar a fost şi este încă subestimată, prezentul studiu propunându-şi să compare caracteristicile cancerului mamar între două loturi de paciente, diabetice şi non-diabetice.

MATERIAL ŞI METODĂ

Am efectuat un studiu retroprospectiv pe un grup de 53 de paciente diabetice diagnosticate şi tratate pentru cancer mamar în Clinicile I şi II de Obstetrică şi Ginecologie Iaşi, în perioada 2003-2007. Din cele 53 paciente diabetice, 43,39% au fost diagnosticate cu diabet la internarea curentă pentru patologia ginecologică, iar restul de 56,61% anterior diagnosticării cancerului mamar. Analiza comparativă a rezultatelor în vederea evidenţierii particularităţilor de diagnostic şi tratament s-a realizat prin raportarea la un lot martor alcătuit din 391 paciente non-diabetice care prezentau cancer mamar.

În evaluarea pacientelor cuprinse în fiecare din cele 2 loturi (diabetice şi non-diabetice) s-au avut în vedere următoarele criterii: demografice, anamnestice, diagnostice şi terapeutice legate de statusul diabetic şi afecţiunea ginecologică.

Datele au fost analizate şi exprimate în termeni de valori medii, exprimări procentuale şi deviaţie standard. Diferenţele semnificative dintre valorile medii au fost investigate cu ajutorul testelor t Student, ANOVA şi Mann-Whitney U iar asocierile dintre diferiţi parametri, cu ajutorul testelor de corelaţie. Prelucrarea statistică a fost realizată prin intermediul programului Statistica 6.0.

REZULTATE

Diagnosticul de cancerul mamar a fost stabilit îla vârsta de 65 ± 12,24 ani în cazul pacientelor diabetice, şi, respectiv, 68,3 ± 12,71 ani la pacientele non-diabetice.

Vârsta pacientei, în momentul stabilirii diagnosticului de diabet zaharat, constituie un criteriu important în definirea riscului de cancer mamar asociat. În lotul studiat, vârsta medie la care a fost diagnosticat diabetul zaharat este de 60,6 ± 12,93 ani.

Menopauza s-a instalat la 48,71 ± 4,3 ani la pacientele diabetice şi la 49,87 ± 4,8 ani la pacientele non-diabetice. Vârsta de instalare a menopauzei în cazul pacientelor diabetice cu cancer mamar a fost cu 1 an mai mică decât a pacientelor non-diabetice şi cancer mamar.

Vârsta menarhei a fost de 14,53 ani în

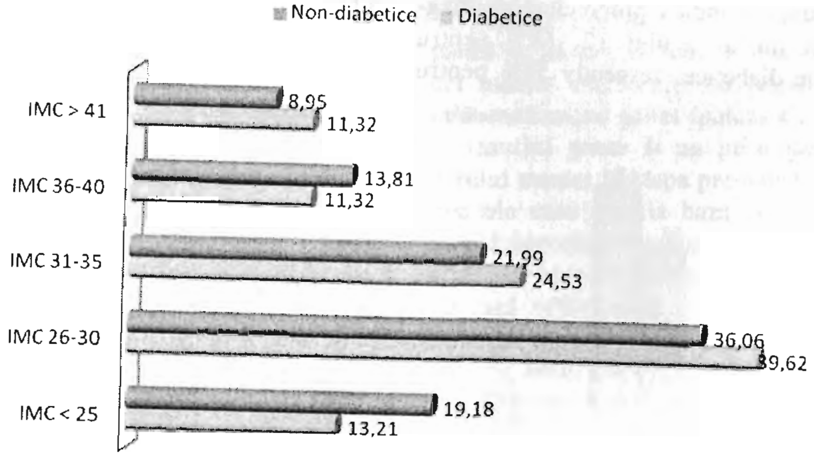


Fig. 1. Repartiţia pacientelor cu cancer mamar în funcţie de IMC

cazul pacientelor diabetice cu cancer mamar şi de 14,27 ani în cazul pacientelor non-diabetice prezentând aceeaşi patologie. Nu există diferenţă semnificativă statistic între valorile înregistrate, ceea ce ne permite a afirma că vârsta menarhei nu se asociază cu cancerul mamar.

Distribuţia pacientelor în funcţie de IMC (indexul de masă corporală) indică faptul că obezitatea se asociază cu creşterea incidenţei cancerului mamar (fig. 1).

Incidenţa cancerului mamar în lotul studiat s-a corelat mai puternic cu IMC în cazul pacientelor diabetice decât în cazul celor non-diabetice (Spearman R = 0,43 vs. 0,37).

Majoritatea pacientelor, la care diabetul s-a asociat cu cancerul mamar, au urmat tratament dietetic sau cu hipoglicemiante orale.

Toate pacientele au prezentat diabet zaharat tip 2 dezechilibrat, iar valoarea medie a glicemiei a fost de 160,53 mg%.

Diabetul zaharat este întâlnit la 11,93% din pacientele cu cancer mamar. Riscul major al acestei asocieri este determinat de vârsta înaintată, obezitate şi predispoziţia genetică

Analiza distribuţiei pacientelor cu patologie malignă mamară în funcţie de dimensiunea tumorii indică preponderenţa diagnosticării lor în stadiul T2, 68% pentru pacientele diabetice, respectiv 50% pentru cele non-diabetice. În ceea ce priveşte stadiul T1, 34% dintre pacientele non-diabetice şi 13% dintre pacientele diabetice au prezentat acest stadiu în momentul internării în spital. Stadializarea TNM a fost semnificativ mai mare în rândul pacientelor diabetice, probabil datorită diferenţelor între stadiile T1-T2.

Diferenţa dintre statusul afectării limfonodulare şi a metastazelor la pacientele non-diabetice versus diabetice nu a fost semnificativă statistic (p = 0,32).

Analiza distribuţiei pacientelor diabetice cu patologie malignă mamară indică faptul că în 57% din cazuri tumorile au fost bine diferenţiate (clasificate G1). Comparativ, pacientele aflate în lotul martor au prezentat preponderent tumori moderat diferenţiate (49%), clasificate în G2. Acest lucru s-ar putea explica prin aportul modificărilor induse de statusul hormonal asociat diabetului zaharat asupra proliferării maligne a celulelor epiteliului mamar, ipoteza demonstrată şi prin studii extensive populaţionale, citate în literatura de specialitate.

Examenul anatomopatologic a identificat predominant carcinoame ductale invazive tip NOS şi carcinoame mixte (fig. 2). Prevalenţa carcinoamelor ductale invazive a fost mai redusă în cazul pacientelor diabetice comparativ cu pacientele non-diabetice spre deosebire de prevalenţa carcinoamelor mixte şi lobulare care a fost mai mare în cazul pacientelor diabetice.

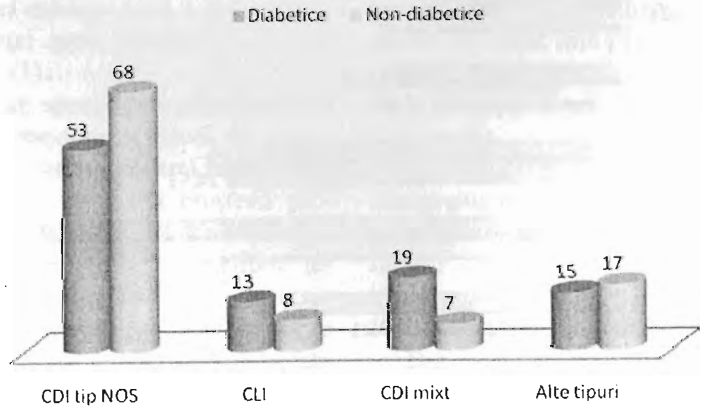


Fig. 2. Repartiţia pacientelor din lot în funcţie de tipul histologic

Repartiţia pacientelor diabetice cu cancer mamar în funcţie de tratamentul chirurgical relevă că mastectomia radicală (Madden sau Patey), modificată asociată cu limfadenectomia axilară a fost tratamentul chirurgical preferat în 57,14% din cazurile de cancer mamar. În 14,29% din cazuri s-a optat pentru intervenţii de tip conservator (sectorectomie). La 7 paciente diabetice (13,2%) s-a administrat tratament chimioterapic anterior intervenţiei chirurgicale. Acest tratament a indus leucopenie severă în 2 cazuri, motiv pentru care s-a instituit tratament cu Leucovorin.

DISCUŢII

Statusul diabetic induce modificări la nivelul diferitelor sisteme hormonale, incluzând insulina, IGF, estrogenii, citokinele şi factorii de creştere, care pot afecta riscul de cancer mamar.

Asocierea între diabetul zaharat şi cancerul mamar poate fi explicată prin trei mecanisme patogenice:

- activarea căii insulinice: ţesutul mamar exprimă IR (insulin receptor) iar legarea insulinei duce la autofosforilarea reziduurilor tirozinice de la nivelul subunităţilor intracelulare şi activarea receptorului. Odată activat, IR stimulează progresia ciclului celular la nivelul celulelor tumorale din ţesutul mamar prin acţiune proprie sau sinergică cu estradiolul. Concentraţiile de IR sunt direct corelate cu dimensiunea tumorii, stadiul ei şi concentraţia în receptori de estrogen. Concentraţiile detectabile de IR în frotiurile de ţesut mamar pot fi un indicator al intervalului liber de boală (5).
- activarea IGF: această cale constă într-o reţea de liganzi, IGF-1 şi IGF-2 care sunt activaţi de aceleaşi proteine. IGF-1 pare să realizeze asocierea între obezitate şi creşterea riscului de cancer mamar (3). Concentraţiile de insulină pot stimula producţia de IGF la pacientele cu diabet zaharat tip 2 prin mecanisme încă incomplet elucidate.
- defectul de reglare a sintezei hormonilor sexuali endogeni: concentraţiile plasmatice crescute de estrogen endogen şi concentraţiile scăzute de SHBG se asociază puternic cu riscul de cancer mamar la femeile în postmenopauză (6,7).

Diabetul poate influenţa, de asemenea,, şi răspunsul la tratament prin asocierea cu un risc crescut de complicaţii cauzate de infecţiile plăgii după tratamentul chirurgical, la care se asociază ca şi complicaţie imediată impotenţa funcţională a membrului superior ipsilateral datorită stazei limfatice post-mastectomie radicală. Efectele adverse ale chimioterapicelor pot fi potenţate de diabet, pacientele cu neuropatie periferică sunt mai susceptibile la complicaţii ale alcaloizilor de vinca şi taxanilor iar cele cu nefropatie sau cardiomiopatie, la complicaţii nefro sau cardiomiotoxice. Folosirea curentă a dozelor ridicate de glucocorticoizi, ca parte a medicaţiei antiemetice, poate accentua hiperglicemia la pacientele cu diabet, ceea ce impune o monitorizare mai atentă a dozelor.

CONCLUZII

Femeile diabetice aflate în postmenopauză au un risc crescut de a dezvolta cancer mamar comparativ cu populaţia generală confirmând astfel ipoteza că rezistenţa la insulină poate fi un promotor al cancerului mamar în etapa prediabetică. Mecanismele care stau la baza acestei asocieri includ hiperinsulinemia, nivelul crescut al IGF-1 şi al estrogenilor circulanţi. Studiul de faţă relevă necesitatea stabilirii unor strategii de screening pentru cancerul mamar în cazul pacientelor diabetice. Metodele de prevenire a diabetului, prin reducerea rezistenţei la insulină cu ajutorul dietei şi al exerciţiului fizic, pot contribui la scăderea incidenţei cancerului mamar.

BIBLIOGRAFIE

1. Lawlor DA, Smith GD, Ebrahim S : Hyperinsulinaemia and increased risk of breast cancer : findings from the British Women's Heart and Health Study. *Cancer Causes Control* 2004 ; 15 : 267-275.
2. Harvie M, Hooper L, Howell AH. Central obesity and breast cancer risk : a systematic review. *Obes Rev* 2003 ; 4 : 157-173.
3. van der Burg B, Rutteman GR, Blankenstein MA, de Laat SW, van Zoelen EJ. Mitogenic stimulation of human breast cancer cells in a growth factor-defined medium : synergistic action of insulin and estrogen. *J Cell Physiol* 1988 ; 134 : 101-108.
4. Bruning PF, Bonfrer JM, van Noord PA, Hart AA, de Jong-Bakker M, Nooijen WJ. Insulin resistance and breast-cancer risk. *Int J Cancer* 1992 ; 52 : 511-516.
5. Belfiore A, Frittitta L, Costantino A et al. Insulin receptors in breast cancer. *Ann NY Acad Sci* 1996 ; 784 : 173-188.
6. Thomas HV, Reeves GK, Key TJ. Endogenous estrogen and postmenopausal breast cancer : a quantitative review. *Cancer Causes Control* 1997 ; 8 : 922-928.
7. Key TJ, Verkasalo PK, Banks E. Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol* 2001 ; 2 : 133-140.

NOUTĂŢI

ADMINISTRAREA SISTEMICĂ DE DOXICICLINĂ VERSUS METRONIDAZOL+AMOXICILINĂ ÎN TRATAMENTUL PARODONTITELOR AGRESIVE LOCALIZATE

Utilizarea antibioticelor ca terapie adjuvantă în managementul afecţiunilor parodontale a prezentat întotdeauna un interes crescut pentru medicii dentişti. Deşi numeroase studii întreprinse au demonstrat importanţa diverselor antibiotice ca adjuvante ale terapiei parodontitelor marginale, puţine sunt studiile care au raportat rezultate comparative ale antibioticelor administrate în parodontitele agresive localizate. Scopul studiului realizat de un grup de cercetători din cadrul Universităţii Hacettepe din Ankara a constat în evaluarea comparativă a efectelor administrării sistemice de doxiciclină versus metronidazol şi amoxicilină în eliminarea *Actinobacillus actinomycetemcomitans* şi urmărirea efectelor clinice timp de 90 zile la pacienţii cu parodontite agresive localizate. Studiul a fost realizat pe un număr de 30 pacienţi cu parodontite agresive localizate, netratate. Pacienţii au fost divizaţi în 2 grupuri care au primit : doxiciclină sau metronidazol plus amoxicilină. Au fost investigaţi parametrii clinici la nivel parodontal, iniţial la debutul studiului şi apoi la 10, 30, 60 şi 90 zile după recoltarea probelor microbiologice. Pacienţilor li s-a efectuat de asemenea debridare mecanică după măsurarea iniţială, la debutul studiului, a pungilor parodontale. Ambele grupuri de pacienţi au demonstrat o îmbunătăţire a parametrilor clinici, iar probele microbiologice au arătat absenţa Actinobacillus actinomycetemcomitans la 30, 60 şi 90 de zile. Utilizarea sistemică a doxiciclinei sau metronidazolului plus amoxiciclină ca adjuvante la terapia convenţională pot fi utile în tratamentul parodontal la pacienţii cu parodontită agresivă localizată (Akincibay H, Orsal SO, Sengün D, Tözüm TF. Systemic administration of doxycycline versus metronidazole plus amoxicillin in the treatment of localized aggressive periodontitis : a clinical and microbiologic study. Quintessence Int 2008 ; 39 (2) : e33-39).

Irina Grădinaru

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

CHIRURGIE

ARTICOLE ORIGINALE

TRATAMENTUL MALFORMAŢIILOR VASCULARE ARTERIO-VENOASE DE FLUX ÎNALT ALE MANDIBULEI

G. Băciuţ [1], Mihaela Băciuţ [1], A. Iancu[2], Ileana Mitre [1], S. Dudea[3], Mândra Badea [4], Diana Dudea[5], S. Bran [1], C. Dinu[1], H. Rotaru[1]

Universitatea de Medicină şi Farmacie "Iuliu Haţieganu" Cluj-Napoca
Facultatea de Medicină Dentară
1 Catedra de Chirurgie Cranio-Maxilofacială
2 Catedra de Cardiologie
3 Catedra de Radiologie
4 Catedra de Odontologie-Parodontologie
5 Catedra de Propedeutică Stomatologică

TREATMENT OF ARTERIO-VENOUS HIGH-FLOW VASCULAR MALFORMATIONS OF THE MANDIBLE (Abstract) : Arterio-venous vascular malformations (AVM) rarely occur in craniofacial bones. The most frequent location has been reported in the mandible. The first clinical evidence of the lesions can be a fatal hemorrhage, occurring spontaneously or subsequent to dental therapy. Lack of knowledge about these lesions among specialists dealing with the oral and maxillofacial regions can lead to fatal complications. The study presents the successful multidisciplinary management of two cases of mandibular AVM using embolization, sclerotherapy and bone reconstruction, a major challenge owing to the substantial risk of morbidity, recurrence by recanalization and revascularization, neurologic deficits and mortality. There were no complications over a follow-up period of 12 years. **Key words** : VASCULAR MALFORMATIONS, HEMORRHAGIC RISK, EMBOLISATION

Malformaţiile vasculare arterio-venoase (MAV) sunt malformaţii congenitale rare, de flux sanguin variabil, care constau din ghemuri vasculare de artere şi vene anormale (numite "cuib"), şi care sunt înconjurate de vase aferente şi eferente dilatate. MAV produce fenomenul de "furt" vascular din teritoriile vecine. Venele de drenaj sunt dilatate, iar pe arterele aferente pot exista anevrisme. MAV se pot însoţi de hemoragii masive, ulceraţii, tromboze, iar dacă sunt localizate endoosos la oasele maxilare, poate apărea şi o simptomatologie clinică legată de mugurii dentari sau de dinţi (1).

Localizarea MAV endoosoase are o frecvenţă redusă la nivelul craniului, iar simptomatologia poate fi ocultă, dar morbiditatea şi mortalitatea poate fi şi crescută (2).

Importanţa studierii lor o conferă implicaţiile şi riscurile majore pentru pacient şi medic pe care le ridică aceste entităţi ; din acest motiv prezentul studiu şi-a propus descrierea leziunii şi a tratamentului efectuat în cazurile de MAV de flux înalt ale mandibulei.

MATERIAL ŞI METODĂ

Studiul a cuprins 2 cazuri de MAV endoosoase cu localizare mandibulară la 2 pacienţi de sex masculin, cu vârste de 6 şi 12 ani, care s-au prezentat în clinică în perioada 1991 - 2006. Pacienţii au sosit în stare de dezechilibru umoral după hemoragii (gingivoragii) repetate, dramatice, produse spontan sau după tentative de tratament stomatologic (extracţii ale dintilor tem-

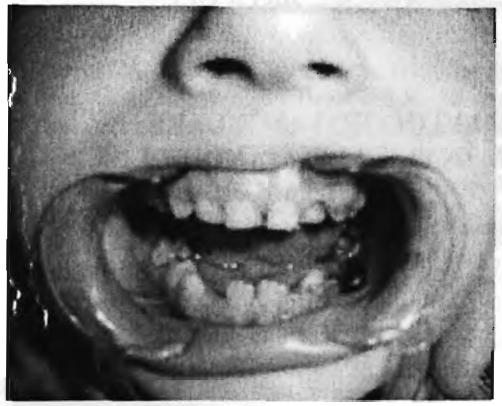


Fig. 1. Aspectul clinic endooral al unui caz de MAV de flux înalt după embolizare. Se remarcă cheagul stabilizat în regiunea 7.5

porari 7.5 respectiv 7.4 în cabinete stomatologice din teritoriu).

Pacienţii au fost investigaţi imagistic pentru stabilirea diagnsoticului şi în special a fluxului sanguin intralezional. Au fost efectuate radiografii convenţionale (OPT) şi angiografii intraarteriale de substracţie digitală (DSA).

După reabilitarea hemodinamică a pacienţilor cu dezechilibru sever (au fost diagnosticaţi cu anemie feriprivă severă, cu valori de: hemoglobină - 5 g%, hematocrit - 14 %, sideremie - 20 gama %) s-au efectuat inclusiv transfuzii de masă eritrocitară şi controlul provizoriu al hemoragiei acute într-un caz, s-au efectuat embolizări intraarteriale selective multiple în cineangiografie şi infiltrarea intralezională de adezivi tisulari şi sclerozante vasculare.

Ulterior acestor proceduri s-a efectuat plastia defectului mandibular.

Embolizarea a fost ultraselectivă, pe arterele facială, linguală, maxilară internă şi facială contralaterală, printr-o tehnică specializată pentru localizarea precisă a situsului de embolizare. Au fost utilizate particule de embolizare din polivinilalcool (microparticule din burete nerezorbabil, inert, elastic) (Ultra Ivalon$^{\text{TM}}$, Ultra Drivalon$^{\text{TM}}$ - Acta Vascular Systems, SUA).

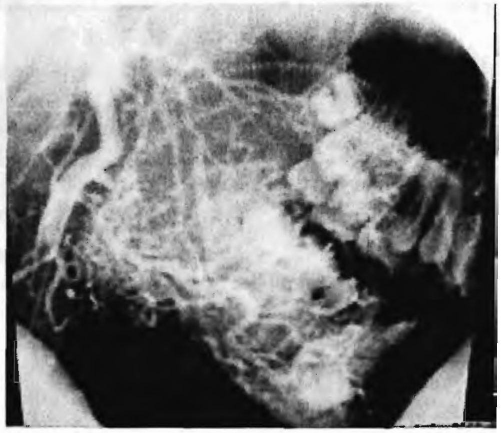


Fig. 2. Artertiografia arterei carotide externe în incidenţa craniu profil într-un caz de MAV a corpului mandibulei stângi. Se observă în faza arterială o reţea vasculară extrem de bogată nutrită din multiple ramuri şi localizată în corpul mandibulei spre anterior ("cuib")

REZULTATE

În ambele cazuri investigaţiile imagistice (DSA) au confirmat diagnosticul de MAV cu caracter de flux înalt ale mandibulei.

Ambii pacienţi au fost echilibraţi hemodinamic adecvat pentru a putea fi supuşi intervenţiilor chirurgicale. Concomitent s-a realizat hemostaza locală provizorie intraalevolară respectiv prin compresiune cu meşe iodoformate fixate prin cerclaj perimandibular cu sârmă de osteosinteză. Nici o altă metodă de hemostază nu a rezistat fluxului sanguin de intensitate extrem de ridicată.

Imediat după aceste proceduri embolizarea intraarterială selectivă a permis ocluzia vaselor aferente homolaterale şi contralaterale ale leziunilor (Fig. 1).

Au fost necesare 3 şedinţe de embolizări într-un caz, şi două embolizări în al doilea caz pentru asigurarea hemostazei. Controlul ocluziei vasculare s-a efectuat prin arteriografie (Fig. 2).

Imediat postembolizare s-au îndepărtat meşele de hemostază şi s-au injectat adezivi tisulari şi sclerozanţi vasculari selectiv în găurile mandibulare şi perilezional. Defectele osoase corespunzătoare cuiburilor vasculare au fost reconstruite cu os autolog din regiuni indemne din vecinătate (unghi mandibular contralateral). Acest tratament a permis evoluţia favorabilă postoperatorie, fără hemoragii, fără recidive şi cu erupţia normală a dinţilor permanenţi (Fig. 3).

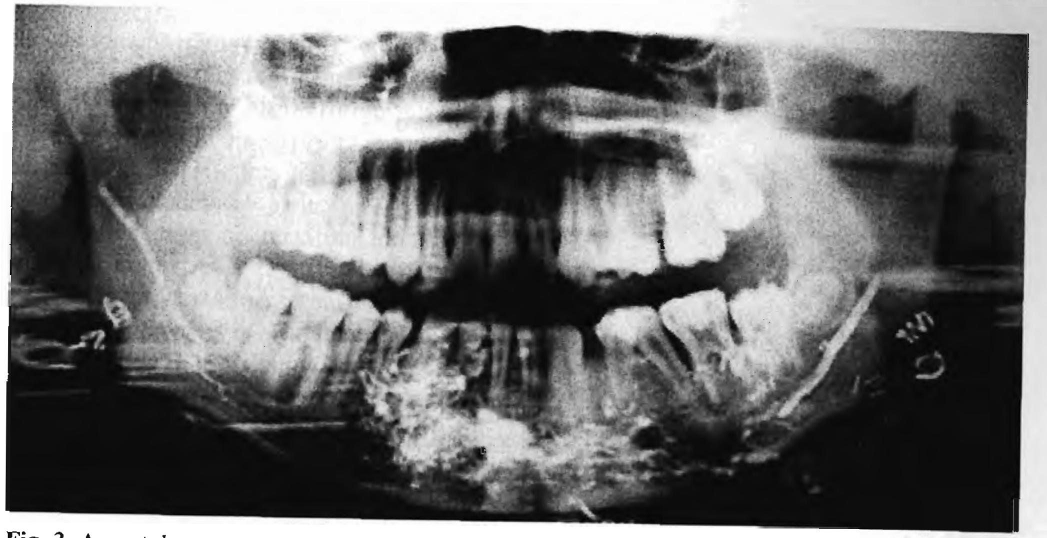


Fig. 3. Aspectul ortopantomogramei la 8 ani după tratament (embolizare, injectare de adezivi tisulari şi sclerozanţi). Se remarcă spirale de embolizare în dreptul ambelor unghiuri mandibulare, adezivi tisulari radioopaci în ambele canale mandibulare şi la nivelul leziunii

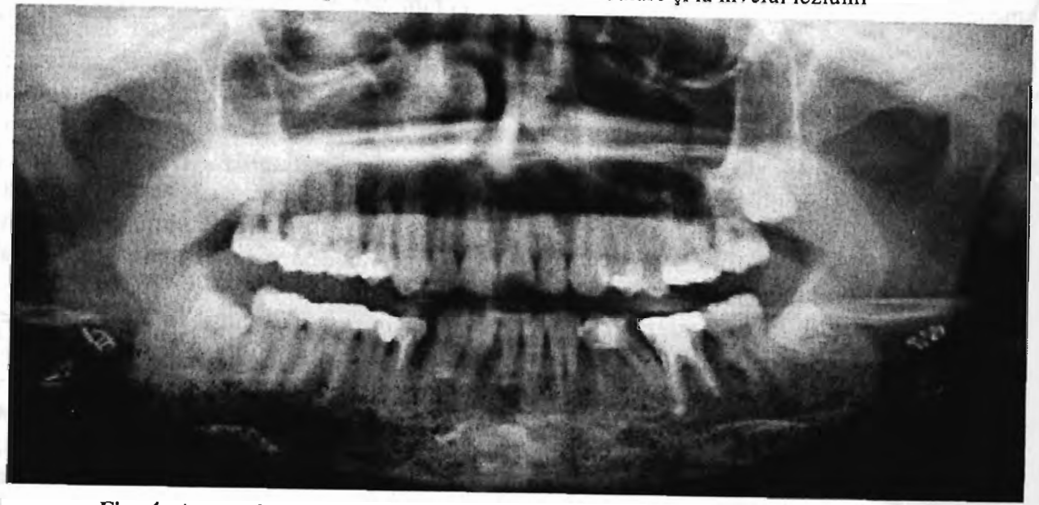


Fig. 4. Aspectul aceluiaşi caz la 12 ani postoperator. Adezivii tisulari s-au resorbit

La 12 ani şi respectiv 2 ani postoperator nu există semne de recidivă sau evoluţie de progresie locală (recanalizare) (Fig. 5).

DISCUŢII

Manifestările clinice ale MAV craniofaciale sunt foarte variabile până la momentul declanşării hemoragiei şi depind esenţial de localizarea leziunii (3, 4). Cea mai frecventă localizare endoosoasă este la nivelul mandibulei. Riscul hemoragic vital apare cu ocazia traumatismelor minore şi a

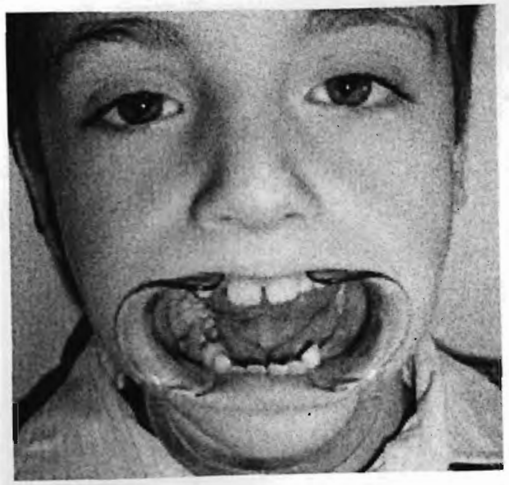


Fig. 5. Aspectul clinic al MAV de corp mandibular stâng la un an postoperator

manevrelor stomatologice pe teren neinvestigat şi nepregătit (de exemplu extracţia dentară), care pot provoca hemoragii greu controlabile sau incontrolabile, care pot duce la exsanguinarea pacientului.

Tratamentul MAV ale oaselor craniofaciale este extrem de dificil.

Preoperator este necesară clasificarea leziunii în funcţie de tipul vascular şi fluxul sanguin intrinsec, prin investigaţii imagistice de evaluare a fluxului intralezional: radiografii convenţionale (OPT - care are de multe ori aspect nespecific), CT (care arată amplificare intensă cu substanţă de contrast şi calcifieri), şi investigaţia de elecţie, angiografia intraarterială (DSA). Este necesară de asemenea diferenţierea MAV de hemangioamele endoosoase (5).

Astfel, malformaţiile vasculare se clasifică după tipul de vase în arteriale, venoase, arterio-venoase, capilare şi limfatice, iar după flux în tip de flux înalt şi redus (6, 7, 8). Malformaţiile venoase se tratează prin scleroterapie percutană, excizie chirurgicală parţială sau totală, chirurgie reconstructivă (preferabil cu os autolog), cu sau fără embolizare precedentă (9, 10). În scop de scleroterapie s-au utilizat substanţe precum sodium tetradecil sulfat, etanol absolut şi N-butil cianoacrilat (11).

Arteriografia este obligatorie înaintea intervenţiei chirurgicale şi oferă totodată şi premisa efectuării embolizării intraarteriale selective. Particulele de embolizare din polivinilalcool utilizate în prezentele cazuri cresc în soluţii cu 20% în volum şi produc ocluzia vasculară. Aplicarea lor necesită o tehnică pretenţioasă, şi frecvent şi asocierea cu spirale de embolizare ("coil"). Embolizarea poate fi repetată până la obţinerea obstrucţiei vasculare, uneori şi de 5 ori, la intervale de 2 săptămâni (10). Este contraindicată ligatura vaselor aferente, deoarece ar face ulterior imposibilă embolizarea transarterială.

Embolizarea poate fi însoţită de riscuri şi complicaţii severe, cum ar fi rupturi vasculare, migrarea particulelor, accidente vasculare cu deficite neurologice, recanalizare şi revascularizare tardiva (12). Scleroterapia este şi ea însoţită de riscul trombozei venoase profunde (11, 13).

În cazurile prezentate, starea generală a pacienţilor a fost foarte bună pe termen lung, iar vindecarea (şi creşterea) osoasă a fost normală.

Pacienţii sunt incluşi în programe de monitorizare şi reabilitare orală complexă. Radiografiile de control au atestat vindecarea osoasă favorabilă şi formarea de os nou (fig. 3, 4). Recuperarea funcţională, estetică şi psihologică este de asemenea foarte importantă în aceste cazuri (14). Succesul tratamentului este asigurat de cooperarea interdisciplinară. La ora actuală există speranţa unor noi terapii bazate pe cerecetările genetice legate de etiopatogenia MAV (14).

CONCLUZII

Măsurile profilactice de investigare imagistică în scop diagnostic - radiografii, arteriografii, cineangiografii au o mare importanţă în detectarea MAV oculte de flux înalt ale scheletului craniofacial, care sunt de obicei slab distincte pe radiografiile convenţionale.

Tratamentul prin embolizare intraarterială şi sclerozarea intralezională reprezintă strategia procedurală salvatoare în cazurile dramatice de MAV de flux înalt cu localizare ocultă endoosoasă.

Cazurile trebuie tratate în centre care dispun de modalităţile complexe multidisciplinare de chirurgie maxilofacială şi intervenţioniste cardiovasculare.

Managementul complex al acestor bolnavi trebuie să cuprindă obligatoriu şi dispensarizarea pentru controlul profilactic minuţios al stării de sănătate orală şi pentru asigurarea continuă a reabilitării orale.

BIBLIOGRAFIE

1. Giaoui L, Princ G, Chiras J, Guilbert F, Bertrand JC. Treatment of vascular malformations of the mandible: a description of 12 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2003; 32(2):132-6.
2. Seehra J, Horner K, Coulthard P. Arteriovenous malformation of the mandible-a case report. *Br Dent J* 2006; 201(1):25-7.
3. Abramowicz S, Marshall CJ, Dolwick MF, Cohen D. Vascular malformation of the temporomandibular joint: report of a case and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103(2):203-6.
4. Alves S, Junqueira JL, de Oliveira EM, Pieri SS, de Magalhaes MH, Dos Santos Pinto D Jr, Mantesso A. Condylar hemangioma: report of a case and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102(5):e23-7.
5. Ozdemir R, Alagoz S, Uysal AC, Unlu RE, Ortak T, Sensoz O. Intraosseous hemangioma of the mandible: a case report and review of the literature. *J Craniofac Surg* 2002; 13(1):38-43.
6. Werner JA, Eivazi B, Folz BJ, Dunne AA. State of the art of classification, diagnostics and therapy for cervicofacial hemangiomas and vascular malformations. *Laryngorhinootologie* 2006: 85 (12):883-91.
7. Ernemann U, Hoffmann J, Breuninger H, Reinert S, Skalej M. Interdisciplinary concept for classification and treatment of vascular anomalies in the head and neck. *Mund Kiefer Gesichtschir* 2002; 6 (6):402-9.
8. Salins PC, Kumar S, Rao CB. Management of large vascular lesions of the lip: case reports. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1997; 26(1):45-8.
9. Ethunandan M, Mellor TK. Haemangiomas and vascular malformations of the maxillofacial region—a review. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2006; 44(4):263-72.
10. Hassani A, Khojasteh A, Vahid R. Management of mandibular vascular malformation with sclerotherapy. Report of two cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102 (1):99-103.
11. Lee BB, Bergan JJ. Advanced management of congenital vascular malformations: a multidisciplinary approach. *Cardiovasc Surg* 2002; 10 (6):523-33.
12. Vaughan M, Hennessy O, Jamieson C, Hemingway AP, Allison DJ. The pre-operative embolisation of vascular malformations. *Br J Radiol* 1985; 58 (692):717-20.
13. Hassard AD, Byrne BD. Arteriovenous malformations and vascular anatomy of the upper lip and soft palate. *Laryngoscope* 1985; 95 (7 Pt 1):829-32.
14. Vazquez MP, Diner PA, Picard A, Soupre V, Enjolras O. Angiomatous lips. *Ann Chir Plast Esthet* 2002; 47 (5):561-79.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

CHIRURGIE

CAZURI CLINICE

ASPECTE CLINICO-MORFOLOGICE ÎN CARCINOM UROTELIAL PAPILAR NONINVAZIV DEZVOLTAT PE PAPILOM UROTELIAL INVERSAT DE VEZICĂ URINARĂ

Alexandrina Pascal[1], N. Dobromir[2], Luminiţa Ivan[3]
Spitalul Judeţean de Urgenţă Suceava
1. Laboratorul de Anatomie Patologică
2. Secţia de Urologie
Spitalul Militar Clinic de Urgenţă "Dr. Iacob Czihac" Iaşi
3. Laboratorul de Anatomie Patologică

CLINICAL AND MORPHOLOGICAL ASPECTS IN A NON-INVASIVE PAPILLARY UROTHELIAL CARCINOMA LOW GRADE, DEVELOPED ON A BLADDER UROTHELIAL INVERTED PAPILLOMA (Abstract): The work presents the clinical and morphological aspects in a case of a non-invasive papillary urothelial carcinoma low grade developed on a bladder inverted papilloma from a patient aged 38 years. The tumour is distinguished by setting up at young age, female sex, by location on the side wall of the bladder and by rare association with inverted urothelial papilloma. **Key words**: BLADDER, UROTHELIAL TUMOURS, INVERTED PAPILLOMA

Papilomul urotelial inversat este o tumoră rară, descrisă pentru prima dată în literatura de specialitate de Potts şi Hirst (1963) (1). Ulterior, studii ale acestei tumori, au raportat asocierea papilomului urotelial inversat cu diferite variante de carcinom urotelial, in special neoplasm papilar urotelial cu potenţial scăzut de malignitate şi carcinom papilar urotelial noninvaziv cu grad scăzut de malignitate (1). Tumora apare cu incidenţă variabilă între 1% şi 2,2% din totalul tumorilor de vezică urinară. Se dezvoltă cu predilecţie la sexul masculin, în raport de 4-5 : 1 faţă de sexul *feminin* cu limite de vârstă raportate intre 10 ani si 93 ani, cu maxim de incidenţă în decadele 6-7 de viaţă (2,3).

Asocierea între papilomul urotelial inversat şi carcinomul urotelial este un subiect controversat şi incomplet elucidat în literatura de specialitate (4).

PREZENTAREA CAZULUI

Lucrarea prezintă un caz de carcinom papilar urotelial noninvaziv cu grad scăzut de malignitate, dezvoltat pe un papilom urotelial inversat, cu localizare în vezica urinară. Tumora s-a dezvoltat la o pacientă de 38 ani, care a solicitat consult urologic pentru unic simptom clinic, hematurie macroscopică.

Antecedentele, examenul clinic şi probele biologice nu au relevat aspecte patologice, exceptând hematuria macroscopică.

Explorările funcţionale imagistice, respectiv examenul ecografic şi urografic, au menţionat o formaţiune tumorală vegetantă, cu baza largă de implantare, cu dimensiuni aproximative 2/1,6 cm., localizată la nivelul peretelui lateral stâng al vezicii urinare(fig. 1).

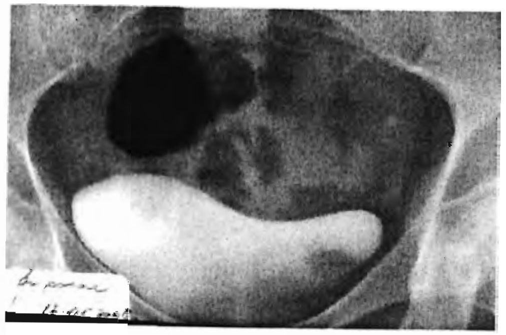


Fig. 1. Cistografie - tumoră perete lateral stâng

S-a practicat rezecţie transuretrală (TURV), ţesutul tumoral a fost fixat în formol 10%, prelucrat prin metoda histopatologică standard, colorat cu hematoxilina-eozina şi Gordon-Sweet pentru evidenţierea membranelor bazale epiteliale.

În evaluarea microscopică a tumorii, am aplicat criteriile recomandate de Ghidul de Diagnostic al Tumorilor Aparatului Urinar şi Genital Masculin OMS 2004, şi clasificarea TNM 2002, recomandată de acelaşi ghid. Microscopic, cea mai mare parte examinată a fost reprezentată de papilom urotelial inversat, varianta trabeculară (fig. 2, 3).

Concomitent am constatat un focar de carcinom papilar urotelial noninvaziv cu grad scăzut de malignitate (fig. 4, 5) alături de un papilom urotelial clasic (fig. 6). În structura papilomului inversat şi a papilomului clasic, nu am constatat activitate mitotică sau atipii citologice, spre deosebire de focarul de carcinom papilar urotelial noninvaziv cu malignitate joasă, în care cele două caractere histologice ale tumorii maligne, au fost evidenţiate în stratul intermediar al proliferării uroteliale.

Limita profundă a tumorii a fost bine delimitată. În mucoasa urotelială recoltată

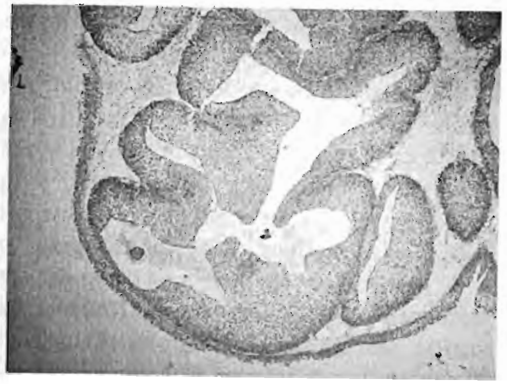


Fig. 2. Papilom urotelial inversat

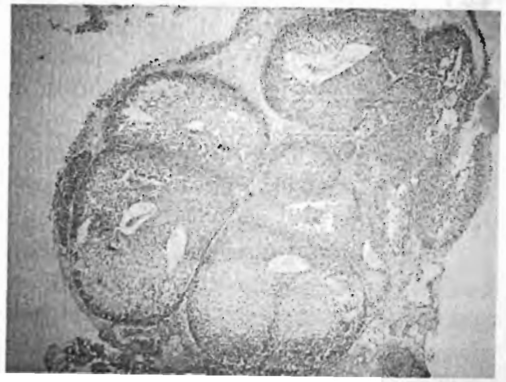


Fig. 3. Papilom urotelial inversat

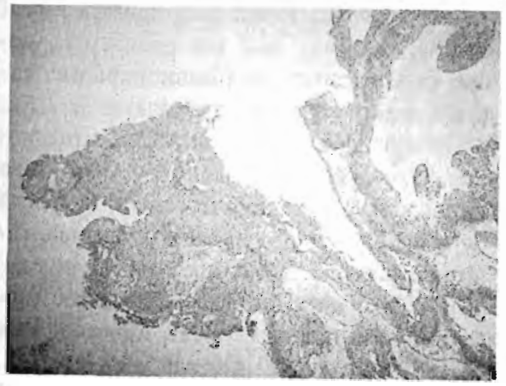


Fig. 4. Carcinom papilar G1

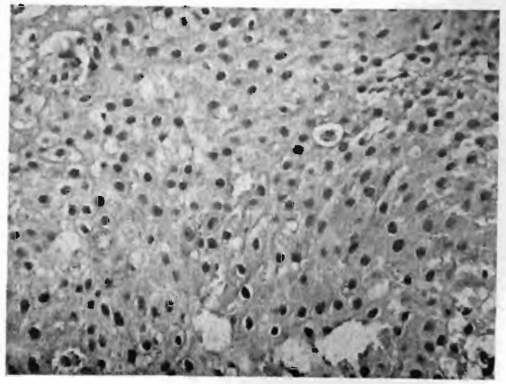


Fig. 5. Detaliu : atipii citologice şi mitoze

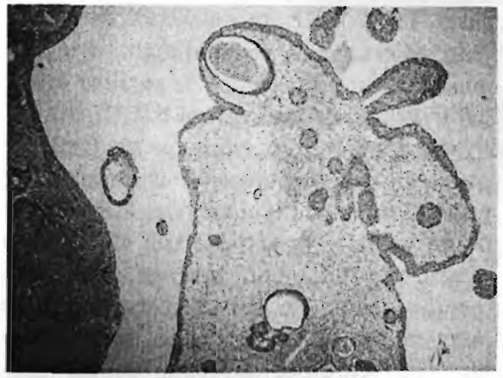


Fig. 6. Papilom urotelial classic

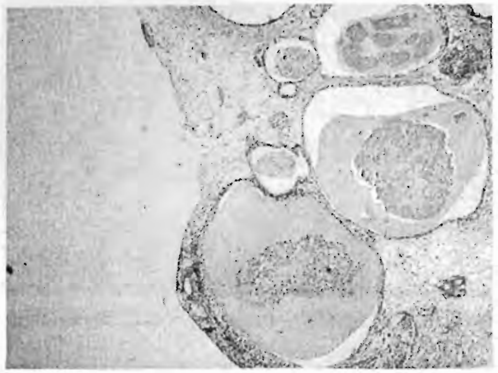


Fig. 7. Insule von Brunn degenerate chistic

din vecinătatea tumorii, am constatat insule von Brunn clasice şi degenerate chistic şi focare de hemoragie în corion(fig. 7).

Am stabilit diagnosticul de carcinom papilar urotelial noninvaziv cu grad scăzut de malignitate (pTaNxMxG1) asociat cu papilom urotelial inversat si papilom clasic. Carcinomul urotelial papilar şi papilomul clasic nu au prezentat probleme dificile de diagnostic.

Diagnosticul diferenţial al papilomului urotelial inversat, s-a făcut cu următoarele leziuni :

1. carcinomul urotelial cu dezvoltare endofitică : a fost exclus prin absenţa atipiilor cito-nucleare şi prin caracterul noninvaziv al tumorii examinate ;
2. carcinomul urotelial infiltrativ varianta în cuiburi : s-a exclus prin absenţa atipiilor citologice şi a caracterului infiltrativ al tumorii. In plus, este o variantă foarte rară de tumoare uroteliară ;
3. insulele von Brunn floride : au caracter difuz în corionul urotelial, nu îmbracă aspect tumoral macroscopic şi microscopic, asemeni celui din leziunea examinată (5).

DISCUŢII

Atât în varianta pură cât şi în asociere cu un carcinom urotelial papilar, papilomul inversat este o tumoare rară. În perioada ianuarie 1997 - august 2008, în cazuistica Laboratorului Anatomie Patologică din Spitalul Judeţean Suceava, s-au înregistrat 3 cazuri din 678 tumori de vezică urinară. Primele două cazuri s-au dezvoltat la sexul masculin în decadele 5 şi 6 de viaţă, au fost localizate în vezica urinară la nivelul trigonului si au reprezentat forme histologice pure .

Tumora se poate localiza oriunde în tractul urinar, de la bazinetul renal până la uretră (2,4). Cel mai frecvent se localizează în vezica urinară la nivelul trigonului şi în colul vezical (2). Se poate asocia cu leziuni benigne sau maligne de vezică urinară.

Clinic, simptomul cel mai frecvent este hematuria, urmată de disurie, sindrom de iritaţie vezicală sau sindrom obstructiv, când tumoarea este localizată în vecinătatea orificiilor endovezicale (1,4,6).

Macroscopic, forma pură îmbracă aspect nodular, polipos, sesil sau pedunculat, neted. În asociere cu neoplasme papilare, îmbracă aspect vegetant papilomatos (1,2,5).

Microscopic, forma pură este reprezentată de proliferare uroteliară endofitică, bine circumscrisă, localizată în corion, acoperită de uroteliu normal sau atrofic. Insulele tumorale prezintă la periferie aspect în palisadă al celulelor, iar in centru, celule uroteliale superficiale. Stroma tumorală este redusă. Activitatea mitotică este absentă, iar atipiile citologice sunt minore şi se observă rar. Se recunosc două forme histopatologice :

- forma trabeculară în care insulele tumorale sunt anastomozate şi pot prezenta degenerescenţă chistică
- forma glandulară, cu structuri glandulare sau pseudoglandulare în interiorul insulelor tumorale (2,5).

Carcinomul urotelial asociat cu papilomul urotelial inversat este rar raportat în literatura de specialitate. Această asociere generează controverse cu privire la relaţia dintre cele două entităţi histopatologice, unii autori sugerând că papilomul urotelial inversat, tumoră considerată benignă, poate avea potenţial malign în unele cazuri (4,6,7,8).

CONCLUZII

Am prezentat acest caz pentru raritatea lui şi pentru problemele de diagnostic pe care le-a ridicat.

Prezenţa carcinomului urotelial dezvoltat în relaţie cu papilomul urotelial inversat ar putea reprezenta o etapă secvenţială în procesul de dezvoltare al neoplasmelor papilare uroteliale.

Asocierea papilomului urotelial inversat cu carcinomul urotelial papilar cu grad scăzut de malignitate impune urmărire riguroasă a cazului după protocolul de urmărire folosit în carcinomul urotelial.

BIBLIOGRAFIE

1. Lazarevic B, Garret R. Inverted papilloma and papillary transitional cell carcinoma of urinary bladder. *Cancer* 1978 ; 42 : 1904-1911.
2. Eble JN, Santei G, Epstein JI, Sesterhem IA. *World Health Organization Clasification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs*. Lyon : IARC Press, 2004.
3. Kilciler M, Bedir S, Erdemir F, Ors O, Kibar Y, Dayanc M. Evaluation of urinary inverted papillomas : a report of 13 cases and literature review. *Kaohsiung J Med Sci* 2008 ; 24 (1) : 25-30.
4. Sung MT, MacLeannan GT, Lopez-Beltran A, Montirom R, Cheng L. Natural history of urothelial inverted papilloma. *Cancer* 2006 ; 107 (11) : 2622-2627.
5. Borda A, Berger N, Vieillefond A. *Ghid de diagnostic în patologia urologică*. Tg. Mureş : University Press, 2006, 77-139.
6. Castillo O, Hoyos J, Vitagliano G, Arellano L. Inverted papilloma of the bladder. *Arch Esp Urologia* 2006 ; 59 (7) : 691-695.
7. Asano K, Abe K, Kato N et al. Clinical studies on inverted papilloma of the urinary tract. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi* 1999 ; 90 (4) : 514-520.
8. Canovas Ivorra JA, Garcia Zamora JA, Losa Garcia JL, Fernandez Garcia JS, Sancez Diaz AF, Cuesto Climent A. Inverted papilloma. Report of two cases and bibliographic review. *Arch Esp Urologia* 2007 ; 60 (6) : 681-684.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

TRATAMENTUL PSEUDARTROZEI ASEPTICE DE CUBITUS PRIN METODA ILIZAROV LA UN PACIENT CU HEMIPAREZĂ SPASTICĂ

C. Botez[1], G. Aprodu[2], Laura Candussi[2], V. Munteanu[3]
Spitalul Clinic de Urgenţă pentru Copii "*Sfânta Maria*" Iaşi
1. Clinica de Chirurgie şi Ortopedie Pediatrică
3. Secţia de Anestezie şi Terapie Intensivă
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
2. Clinica de Chirurgie şi Ortopedie Pediatrică

TREATMENT OF ASEPTIC ULNAR NON-UNION IN A PACIENT WITH SPASTIC HEMIPARESIS BY ILIZAROV METHOD (Abstract) Both-bone diaphyseal forearm fractures in children are common lesions. Non-union is very rare, almost exclusively in the ulna. We present a case of forearm fracture in a pacient with spastic hemiparesis involving the injured forearm, treated initially with open reduction and intramedullary nailing. Ulnar deviation of both bones, with bending of intramedullary implants, occurred during postoperative period, due to spasticity of forearm flexors. An aseptic non-union of the ulna also developped. Both complications were treated by compression osteogenesis using a Ilizarov circular frame, the end results being excellent. The unusual and rare association between a preexisting neurologic spastic disorder and a forearm fracture can lead to malunion or/and nonunion, a more rigid method of initial osteosynthesis (locked compression plate) being an alternative in such cases.

Key words: FOREARM FRACTURES, NON-UNION, ULNA, SPASTIC HEMIPARESIS, ILIZAROV, CHILDREN

Fracturile de ambe oase ale antebraţului sunt leziuni frecvente la copil (1,2,3). Modalităţile de tratament a fracturilor cu deplasare sunt variabile; în anii '60, reducerea închisă şi imobilizarea gipsată era metoda utilizată cvasiunanim (4), criteriile de "acceptabilitate" a reducerii fiind apreciate cu oarecare largheţe (5,6,7,8). Lipsa menţinerii contactului interfragmentar după reducerea închisă este o indicaţie absolută de tratament chirurgical (5,9,10,11). Osteosinteza intramedulară cu broşe Kirschner este una din cele mai utilizate maniere de fixare internă la pacientul de vârstă pediatrică (12,13,14).

Pseudartroza oaselor antebraţului este foarte rară în perioada de creştere osoasă, fiind de cele mai multe ori cauzată de traumatisme iniţiale complexe asociate cu osteită sau din cauza osteosintezei inadecvate (15,16). Prezentăm în continuare cazul unei paciente cu fractură a ambelor oase ale antebraţului şi cu hemipareză spastică, ce a dezvoltat o pseudartroză în focarul cubital, rezolvată ulterior prin metoda Ilizarov.

PREZENTAREA CAZULUI

Pacienta, în vârstă de 13 ani şi 5 luni la data leziunii, este diagnosticată cu hemipareză spastică stângă de la vârsta de 6 ani. Suferă un traumatism prin cădere de la acelaşi nivel cu sprijin pe mâna stângă, rezultând o fractură 1/3 medie cu 1/3 inferioară de ambe oase antebraţ stâng cu deplasare *ad latus* şi *ad longitudinem* în ambele focare. Vârsta pacientei şi deplasarea fracturilor impune tratament chirurgical cu reducere deschisă a ambelor focare şi osteosinteză intramedulară cu broşe Kirschner urmată de imobilizare în gips brahiantebrahidigital stâng. Evoluţia e favorabilă, fiind externată a 3-a zi postoperator, cu indicaţia de a păstra gipsul timp de 8 săptămâni (fig. 1).

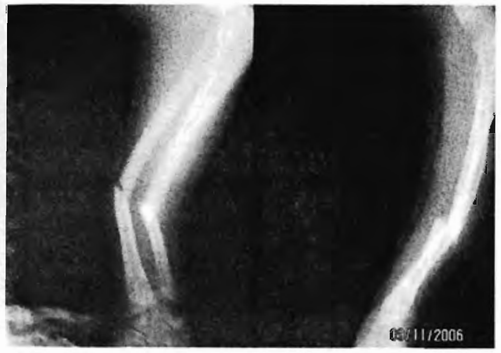


Fig. 1. Aspect radiologic iniţial

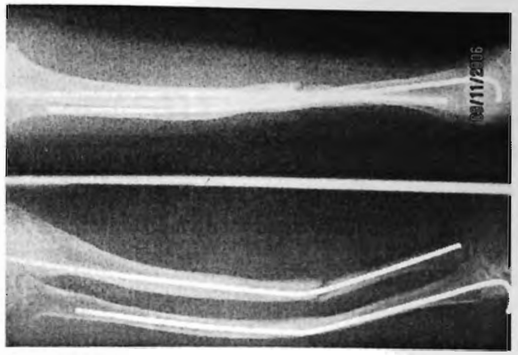


Fig. 2. Radiografie la 4 luni postoperator

După perioada prescrisă se constată întârziere în consolidare a focarului cubital, repunându-se gips pentru încă două luni. La 4 luni de la intervenţie radiografia evidenţiază consolidarea cvasicompletă a focarului radial şi întârziere de consolidare a celui ulnar. Se observă de asemenea angulaţia în adducţie în ambele focare de fractură, cu deformarea concomitentă a broşelor Kirschner (fig. 2). Se decide reimobilizare gipsată în speranţa consolidării focarului ulnar. La 10 luni de la operaţie, pseudartroza cubitală este constituită radiologic, focarul radial fiind consolidat complet. Ambele oase prezintă angulaţie ulnară cu apexurile în zona fracturară, cu un unghi de 28 de grade. Această inedită complicaţie a fost posibilă datorită spasticităţii musculaturii antebraţului, cu predominenţa tonusului flexorilor (fig. 3, 4).

La un an de la intervenţia iniţială, strategia terapeutică trebuia să se adreseze pseudartrozei ulnare constituite şi corecţiei deviaţiei în adducţie a ambelor focare. S-a optat pentru corecţie acută a angulaţiilor şi osteosinteză prin compresie prin fixator extern Ilizarov. După extragerea broşelor s-a abordat radiusul în zona focarului consolidat practicându-se osteotomie cuneiformă cu baza extern, permiţând corecţia axială şi scurtarea cu 1cm a radiusului. Cadrul de fixare externă constă din trei inele grupate în două module funcţionale, cu broşe dispuse pe patru niveluri. Modulul superior este compus din două inele, cu câte două broşe trecute prin ambele oase şi respectiv cubitus (nivelurile I şi II). Modulul inferior este format dintr-un singur inel cu trei broşe

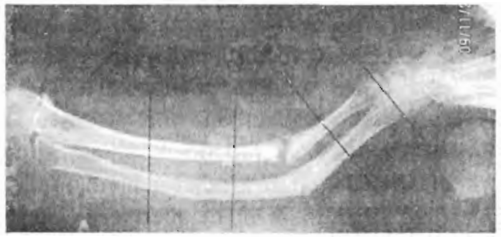


Fig. 3. Aspect radiografic la un an de la intervenţie. Pseudartroza ulnei, deviere în adducţie a 1/3 inferioare a antebraţului

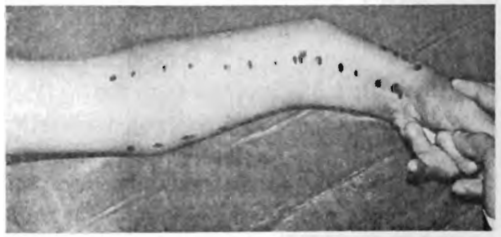


Fig. 4. Aspect clinic preoperator

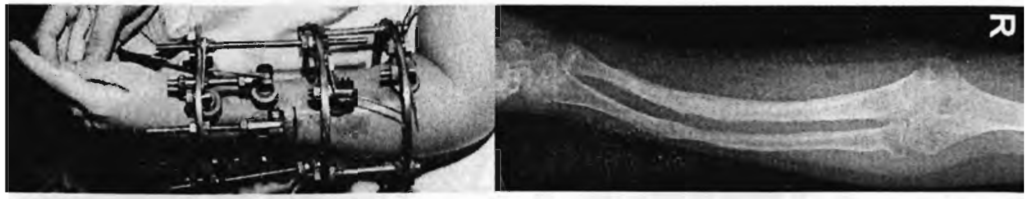


Fig. 5. Stânga : antebraţul cu fixatorul extern Ilizarov montat. Dreapta : radiografia la finele tratamentului : ambele focare consolidate

dispuse pe două niveluri (III şi IV). Inelul distal a fost conectat la modulul proximal cu tije prevăzute cu şaibe emisferice ce permit angularea inelului. S-a ales această soluţie pentru că spaţiul restrâns dintre cele două inele, intermediar şi distal, nu permitea instalarea articulaţiilor clasice între tije. Focarul de pseudartroză cubitală nu a fost deschis.

Ansamblul, odată montat, permitea osteogeneza prin compresie a focarului de osteotomie radial şi a celui de pseudartroză ulnară.

Postoperator, axarea clinică a antebraţului este anatomică. Evoluţia postoperatorie este fără complicaţii. După două luni, imaginile radiologice nu sunt concludente, inelul intermediar suprapunându-se peste focarul de pseudartroză. În aceste condiţii se modifică arhitectura fixatorului extern degajând zona treimii inferioare a antebraţului, poziţionarea broşelor nefiind schimbată. La trei luni de la instalarea cadrului de fixare externă, radiografiile arată semne de consolidare iar după încă două luni se suprimă fixatorul. Imaginile radiografice după îndepărtarea cadrului evidenţiază consolidarea completă a ambelor focare, cu discretă angulaţie ulnară reziduală, aspectul clinic fiind însă normal (fig. 5).

DISCUŢII

Pseudartroza după fracturile antebraţului la copil este foarte rară datorită ratei rapide de producere de os şi a osificării periostale specifice vârstei (17). Apare de cele mai multe ori după fracturi deschise sau fracturi tratate chirurgical, la copii cu vârsta cuprinsă între 13 şi 16 ani. Cubitusul este locaţia aproape exclusivă a pseudartrozelor, probabil din cauza acţiunii de distracţie interfragmentară indusă de broşa introdusă retrograd (18,19). Cele mai utilizate maniere de tratament sunt grefa osoasă autologă cu os spongios urmată de osteosinteză cu placă cu compresiune dinamică sau blocată sau compresia focarului de pseudartroză prin fixatoare externe, cu sau fără grefă osoasă (20). Metoda Ilizarov este de elecţie pentru osteogeneza prin compresie, având indicaţii în toate pseudartrozele oaselor lungi. Cazul prezentat se încadrează în observaţiile de mai sus, elementul de diferenţiere cel mai important fiind reprezentat de asocierea hemiparezei spastice preexistente ce afecta şi antebraţul cu leziunea fracturară. Spasticitatea permanentă a musculaturii antebrahiale şi în special hipertonia muşchilor flexori a învins rezistenţa implanturilor intramedulare, determinând deformarea în adducţie a porţiunii inferioare a antebraţului. Există posibilitatea ca instabilitatea focarului de fractură indusă de spasticitatea musculară să fi contribuit semnificativ la instalarea pseudartrozei ulnei; pe de altă parte, focarul radial, supus şi el aceleiaşi lipse relative de coaptare interfragmentară, a consolidat fără probleme. Probabil strategia terapeutică iniţială ar fi trebuit să ţină cont de asocierea hemiparezei spastice, fiind indicată în acest caz osteosinteza cu placă blocată sistem AO, aceasta comportându-se ca un "fixator intern", forţele deformante induse de contractura musculară fiind astfel contracarate de la început.

CONCLUZII

Asocierea unei fracturi de ambe oase ale antebraţului cu deplasare, survenită în intervalul de vârstă 13-16 ani, cu o afecţiune neurologică spastică coexistentă, hipertonia implicând membrul traumatizat, poate ridica probleme dificile de strategie terapeutică ; se cumulează factori predispozanţi la pseudartroză. Utilizarea de la început, în astfel de cazuri, a osteosintezei cu placă cu compresiune blocată, în special în focarul ulnar, poate evita constituirea pseudartrozei. Osteogeneza prin compresie prin metoda Ilizarov, ca tratament al lipsei de consolidare osoasă, dă rezultate excelente, fiind metoda de elecţie uzitată în astfel de cazuri.

BIBLIOGRAFIE

1. Landin LH. Fracture patterns in children : analysis of 8682 fractures with special referrence to incidence, etiology and secular changes in a Swedish urban population 1950-1979. *Acta Orthop Scand* 1983 ; 54 : Suppl 202.
2. Mann DC, Rajmaira S. Distribution of physeal and non-physeal fractures in 2650 long bone fractures in children aged 0-16 years. *J Pediatr Orthop* 1990 ; 10 : 713-716.
3. Tredwell SJ, Van Peteghem K, Clough M. Pattern of forearm fractures in children. *J Pediatr Orthop* 1984 ; 4 : 604-608.
4. Blount WP, Schaefer AA, Johnson JH. Fractures of the forearm in children. *JAMA* 1942 ; 120 : 111-116.
5. Daruwalla JS. A study of radioulnar movements following fractures of the forearm in children. *Clin Orthop* 1979 ; 139 : 114-120.
6. Hogstrom H, Nilsson BE, Willner S. Correction with growth following diaphyseal forearm fractures. *Acta Orthop Scand* 1976 ; 47 : 299-303.
7. Carey PJ, Alburger PD, Batz RR, Clancy M, Steel HH. Both-bone forearm fractures in children. *Orthopaedics* 1992 ; 18 : 1015-1019.
8. Yonger AS, Tredwell SJ, Mackenzie WG. Accurate prediction of outcome after pediatric forearm fracture. *J Pediatr Orthoped* 1994 ; 14 : 200-206.
9. Kay S, Smith C, Oppenheim WL. Both-bone midshaft forearm fractures in children. *J Pediatr Orthop* 1986 ; 6 : 306-310.
10. Fuller DJ, McCullough CJ. Malunited fractures of the forearm in children. *J Bone Joint Surg* 1982 ; 64-B : 364-367.
11. Thomas EM, Tuson KW, Browne PS. Fractures of the radius and ulna in children. *Injury* 1975 ; 7 : 120-124.
12. Amit Y, Salai M, Chechik A, Blankstein A. Closing intramedullary nailing for the treatment of diaphyseal forearm fractures in adolescence : a preliminary report. *J Pediatr Orthop* 1985 ; 5 : 143-146.
13. Verstreken L, Delronge G, Lamoureux J. Shaft forearm fractures in children : intramedullary nailing with immediate motion : a preliminary report. *J Pediatr Orthop* 1989 ; 5 : 452-453.
14. Lascombes P, Prevot J, Lingier JN, Metaizeau JP. Elastic stable intramedullary nailing in forearm shaft fractures in children : 85 cases. *J Pediatr Orthop* 1990 ; 10 : 167-171.
15. Chapman MW, Gordon JE, Zissimos AG. Compression-plate fixation of acute fractures of the diaphyses of the radius and ulna. *J Bone Joint Surg* 1989 ; 71 : 159-169.
16. Anderson LD, Sisk D, Tooms RE, Park WI 3rd. Compression-plate fixation in acute diaphyseal fractures of the radius and ulna. *J Bone Joint Surg* 1975 ; 57 : 287-297.
17. Schmittenbecher PP, Fitze G, Godeke J, Kraus R, Schneidmuller D. Delayed healing of forearm shaft fractures in children after intramedullary nailing. *J Pediatr Orthop* 2008 ; 28 (3) : 303-306.
18. Ogonda L, Wong-Chung J, Wray R. Delayed union and non-union of the ulna following intramedullary nailing in children. *J Pediatr Orthop* 2004 ; 13 : 330-333.

19. Adamczyk MJ, Riley PM. Delayed union and non-union following closed treatment of diaphyseal pediatric forearm fractures. *J Pediatr Orthop* 2005 ; 25 : 51-55.
20. Ring D, Allende C, Jafarnia K, Allende BT, Jupiter JB. Ununited diaphyseal forearm fractures with segmental defects : plate fixation and autogenous cancellous bone grafting. *J Bone Joint Surg* 2004 ; 86-A (11) : 2440-2445.

NOUTĂŢI

HIPOCAMPUL ESTE VULNERABIL LA HIPOGLICEMIE

Hipocampul joacă un rol esenţial în funcţia mnezică, fiind una din principalele structuri afectate în boala Alzheimer. Există numeroase argumente experimentale şi clinice care sugerează afectarea funcţională a acestuia în diabet, ceea ce reprezintă un cofactor evolutiv spre boala Alzheimer. Heterogenitatea structurală a hipocampului determină o vulnerabilitate diferită a acestuia faţă de diferitele procese patologice, făcând dificilă diferenţierea, *in vivo,* între procesele degenerative, ischemice şi diabet. O echipă americană şi-a propus aprofundarea acestor probleme prin stabilirea vulnerabilităţii diferitelor zone din hipocamp, măsurându-le debitul prin IRM, în vederea obţinerii unei hărţi funcţionale de înaltă rezoluţie. Studiul a cuprins 240 de subiecţi fără demenţă, în vârstă de aproximativ 80 de ani, care au fost supuşi şi unei evaluări neuropsihologice detaliate. 60 de subiecţi au prezentat un diabet de tip 2, iar 74 un infarct cerebral precizat prin IRM. Coroborând datele obţinute cu cele rezultate din studii pe modele animale, autorii concluzionează că *girus dentatus* este cel mai vulnerabil la hipoglicemie, în timp ce infarctul vaselor mici este mai frecvent în regiunea CA1 (Wu W et al. The brain in the age of old : The hippocampal formation is targeted differentially by diseases of late life. *Ann Neurol* 2008 ; 64 (6) : 698-706).

Al.D. Ciochină

IVABRADINA ŞI REDUCEREA ZONEI INFARCTIZATE

Efectul agentului bradicardizant ivabradina asupra fluxului sangvin regional, funcţiei contractile şi dimensiunilor zonei infarctizate au fost studiate pe un model experimental animal de ischemie/ reperfuzie. După inducerea anesteziei, animalele de laborator au fost supuse la o ischemie controlată de aproximativ 90 minute, în teritoriul arterei coronare descendente anterioare şi apoi la 120 minute de reperfuzie. Fluxul sangvin regional a fost măsurat cu ajutorul microsferelor, funcţia regională a fost evaluată cu sonomicrometrie iar zona infarctizată a fost pusă în evidenţă cu trifenil tetrazolium clorid. Animalele au primit placebo sau ivabradină (0,6 mg/kg iv) înainte, în timpul ischemiei sau după reperfuzie. Pretratamentul cu ivabradină a redus aria de infarct de la 35 ± 4% la 19 ± 4% iar administrarea ivabradinei la 15-20 minute de la debutul ischemiei a condus la creşterea fluxului regional de la 2,12 ± 0,31 la 3,55 ± 0,56 μL/bătaie/g şi performanţa sistolică a pereţilor ventriculului stâng de la 6,7 ± 1 la 16,3 ± 3% ; zona de infarct a fost redusă de la 12 ± 4 la 2 ± 1%. Chiar şi administrarea ivabradinei la 5 minute după reperfuzie a redus zona de infarct de la 36 ± 4 la 21 ± 5%. În concluzie, beneficiul ivabradinei, nou agent bradicardizant acţionând asupra nodului sinusal, pare să se extindă, posibil şi prin alte mecanisme, asupra protecţiei antiischemice (Heusch G, Skyschally A et al. Improvement of regional myocardial blood flow and function and reduction of infarct size with ivabradine : protection beyond heart rate reduction. *Eur Heart J* 2008 ; 29 (18) : 2266-2275).

Corina Dima-Cozma

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

CHIRURGIE **TEHNICI ŞI METODE**

ISTMOPEXIA DAN ALESSANDRESCU ŞI TEHNICA AUTORULUI ÎN PROLAPSUL DE GRADUL III ASOCIAT CU INCONTINENŢĂ URINARĂ LA EFORT ŞI PROLAPS DE BOLTĂ VAGINALĂ. STUDIU COMPARATIV

A.B. Ionaşcu[1], G. Bănceanu[1], Zenovia Pricop[2], T. Spircu[3], Livia Sandu[1]
1. Spitalul Clinic Polizu Bucureşti
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
2. Clinica a III-a Obstetrica Ginecologie "Elena Doamna"
Universitatea de Medicină şi Farmacie "C. Davila" Bucureşti
Facultatea de Medicină
3. Catedra de Biostatistică

DAN ALESSANDRESCU'S ISTMOPEXY TECHNIQUE AND AUTHOR'S TECHNIQUE IN GRADE III GENITAL PROLAPSE WITH EFFORT URINARY INCONTINENCE AND VAGINAL VAULT PROLAPSE. COMPARATIVE STUDY (Abstract) : The study is based on Polizu's Clinic experience and is an comparative analysis between Dan Alessandrescu's technic of istmopexy and a technique imagined by the author used in surgical treatment of genital prolapse grad III with urinary incontinence and vaginal vault prolapse. **Material and method** : From 2168 cases with genital prolapse pathology associated or not with UEI, 129 formed the refference lot which was treated with the two techniques : 85 (Dan Alessandrescu's istmopexy) and 45 (author's technique) for grade III genital prolapse associated with UEI. This study presents the statistics a surgical treatment of grade III uterine prolaps with urinary incontinence in Polizu Clinic during 15 years. **Results** : When the new technique had been used a decrease of urinary incontinence recidives (from 7.1% to 6.7%) and enterocele (from 7.1% to 4.4%) have been observed. Conclusions : Postoperatory evolution shows the decrease of the recidives frequency. **Key words** : URINARY EFFORT INCONTINENCE, DAN ALESSANDRESCU ISTMOPEXY

Prezenta prolapsului genital este foarte frecventă, mai ales la femeile în vârstă, între 50-70 de ani.

Tulburările suportului pelvin sunt responsabile pentru majoritatea intervenţiilor chirurgicale de corectare a prolapsului genital şi a incontineţei urinare la efort (IUE). Înţelegerea mecanismului fiziopatologic a avansat lent, fie datorită lipsei unui sistem unitar de codificare a gradelor de prolaps şi IUE, fie datorită posibilităţilor de investigare a afecţiunii (1,2).

Metodele chirurgicale de refacere a tulburărilor de statică sunt în prezent numeroase (peste 200 de procedee tehnice), fapt ce demonstrează încă deficienţa acestora şi imposibilitatea refacerii adecvate a aparatului de susţinere şi suspensie pelvigenitală.

Pentru rezolvarea acestei patologii în Clinica Polizu, Profesorul Dan Alessandrescu a imaginat o tehnică ce îi poarta numele - Tehnica Istmopexiei - care a fost folosită cu succes timp de peste trei decenii în rezolvarea diferitelor tipuri de prolaps asociat cu IUE.

Pornind de la aceasta tehnică, de la experienţa acumulatată de întreg colectivul clinicii, de la rezultatele pozitive obţinute de-a lungul timpului (trei decenii), bazat pe observaţii personale şi pe considerente anatomice şi fiziologice am imaginat o tehnică standard care este destinată să consolideze mai bine planşeul perineal posterior, spaţiul rectovaginal (1,3).

Pe parcursul a 15 ani, am introdus ca rezolvare chirurgicală alături de procedeul Prof. Dan Alessandrescu o tehnică imaginată de autor - cu acordul şi informarea pacienţilor. Acest lucru a permis ulterior realizarea unei analize în paralel a acestor două căi de abordare chirurgicală (1,4)

MATERIAL ŞI METODĂ

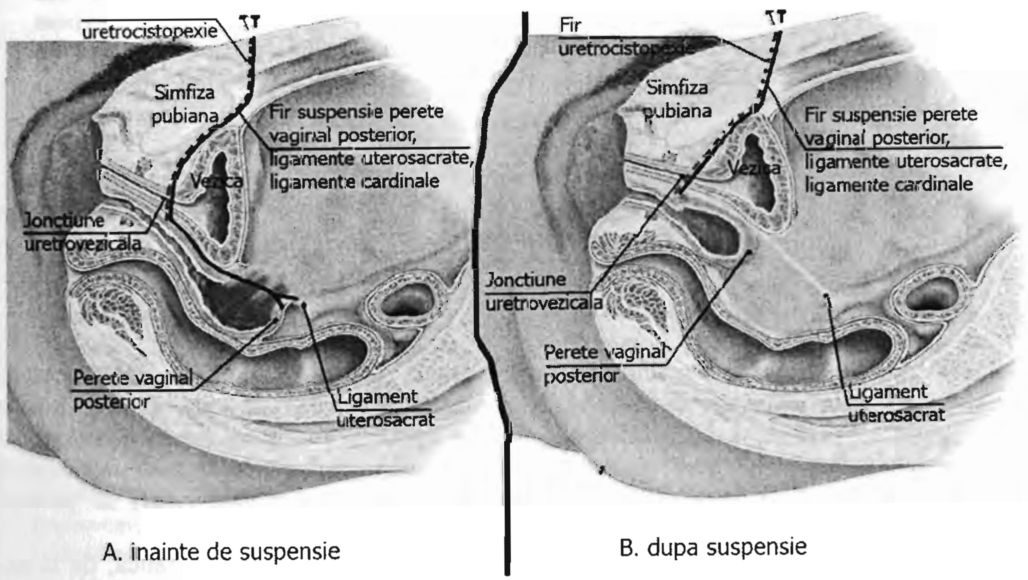
Am realizat un studiu retrospectiv şi analitic în clinica Polizu pe parcursul a 15 ani (1991 - 2006) pe un lot de 2168 de cazuri cu patologie de prolaps (gradele I, II şi III) asociat sau nu cu IUE (forma medie, uşoară, gravă).

Din acest lot de referinţă am selectat cazurile de prolaps gradul III asociat cu IUE care au fost rezolvate chirurgical prin tehnica istmopexiei a Prof. Dan Alessandrescu, lot format din 84 de cazuri, şi 45 de cazuri rezolvate prin tehnica autorului. S-au urmărit parametrii care pot veni în sprijinul demonstrării eficientei acestui artificiu de tehnică operatorie.

Tehnica autorului îşi propune tratarea unui punct sensibil al tehnicii de bază, şi anume rezolvarea recidivelor care pot apărea datorită lipsei de consolidare a structurilor pelvine posterioare (exemplu: elitrocelul).

a) Tehnica autorului aduce ca noutate de rezolvare chirurgicală amararea ligamentelor cardinale uterosacrate şi a peretelui cranial (proximal) vaginal posterior cu un fir neresorbabil ce va trece prin tunelele retrosimfizare, retropubiene preformate (în cazul prolapsului genital gradul III fără IUE) (fig. 1A);

b) Trecerea aceluiaşi fir neresorbabil amintit anterior concomitent cu firele de suspendare a joncţiunii uretrovezicale ce vor fi trecute prin aceleaşi tunele preformate retropubiene şi retrosimfizare, până la teaca muşchilor drepţi abdominali (în cazul prolapsului genital gradul III asociat cu IUE) (fig. 1B);



A. inainte de suspensie

B. dupa suspensie

Fig. 1. Artificiul de tehnică operatorie - amararea ligamentelor cardinale, uterosacrate şi a porţiunii proximale a peretelui vaginal posterior, concomitent cu amararea joncţiunii uretero-vezicale

c) De remarcat faptul că amararea la nivelul tecii drepţilor se poate face şi prin prinderea acestora deasupra tecii şi dedesubtul tegumenteleor, prin stratul de ţesut adipos, cu o singură prindere laterală, fără incizie suprapubiană.

Avantajul tehnicii autorului faţă de procedeul Dan Alessandrescu este reprezentat prin faptul că acesta caută să repare cât mai mult din spaţiul restant post histerectomie (între vagin şi rect) prin apropierea şi tracţionarea ligamentelor uterosacrate. Manevra poate fi completată prin ligatura încrucişată dintre ligamentele cardinale şi pediculii utero-anexiali, de pe o parte, cu ligamentele uterosacrate, de pe partea controlaterală.

Principalul dezavantaj al artificiului de tehnică este modificarea axului vaginului şi implicit degradarea calităţii vieţii sexuale postoperator.

Pacientelor, cărora li s-a aplicat artificiul de tehnică, au fost înştiinţate despre tipul intervenţiei şi s-a obţinut consimţământul informat înaintea intervenţiei.

REZULTATE

Interpretarea rezultatelor finale (complicaţii imediate şi complicaţii tardive) privind cele două procedee analizate în rezolvarea patologiei de prolaps gradul III asociat cu IUE, şi anume istmopexia Dan Alessandrescu (D.A.) şi tehnica autorului (T.A.), conform analizei statistice făcută cu programul EPI INFO se constată următoarele, în ceea ce priveşte complicaţiile imediate (tab. I). Pentru toate tipurile de complicaţii postoperatorii imediate, procentajul efectelor negative este mai mic în cazul artificiului de tehnică imaginat de către autor decât în cazul procedeului Dan Alessandrescu. Intervalele de încredere 95% pentru respectivele procente nu sunt disjuncte. Aceasta nu ne îndreptăţeşte să afirmăm net ca T.A. este mai bună decât procedeul Dan Alessandrescu, ci doar că este comparabil cu el.

Nu au fost constatate cazuri de complicaţii postoperatorii tardive de tipul fistulelor urogenitale. Pentru complicaţiile postoperatorii tardive de tipul incontinenţei recidivate şi elitrocelului, procentajul efectelor negative este sensibil mai mic în cazul artificiului de tehnică imaginat de către autor decât în cazul procedeului Dan Alessandrescu. Intervalele de încredere 95% pentru respectivele procente nu sunt însă disjuncte. Aceasta nu ne indreptăţeste statistic să afirmăm că artificiul de tehnică este mai bun decat procedeul Dan Alessandrescu, ci doar ca este comparabil cu el

TABELUL I

Complicaţii imediate postoperatorii

Tehnica	D.A.	T.A.	D.A.	T.A.
	Procentaj complicaţii		Interval de încredere95%	
Infecţii urinare	9,5%	6,7%	4,2-17,9%	1,4-18,3%
Retenţie acută de urină	9,5%	6.7%	4,2-17,9%	1,4-18,3%
Serom plagă	2,4%	0%	0,3-8,3%	0%

TABELUL II

Complicaţii postoperatorii tardive

Tehnica	D.A.	T.A.	D.A.	T.A.
	Procentaj complicaţii		Interval de incredere95%	
Fistule urogenitale	0	0	0	0
IUE recidivată	7,1%	6,7%	2,7-14,9%	1,4-18,3%
Elitrocel	7,1%	4,4%	2,7-14,9%	0,5-15,1%

TABELUL III

Indicele global de gravitate

Procedeu	Fără complicații	Cu complicații			Total	Indice de gravitate
		SP	IU	RA		
	0	1	3	4		
D.A.	66	2	8	8	84	0,690
T.A.	39	0	3	3	45	0,467

(numărul mic de cazuri, datorat în principal patologiei, nu suportă - din motive statistice - afirmaţii categorice în favoarea superiorităţii absolute a acestui artificiu de tehnică).

Comparaţia între cele două procedee poate fi făcută evaluând starea de sănătate post-operatorie imediată. Neapariţia vreunei complicaţii la pacientă va fi marcată din nou cu indicele 0, iar apariţia unei complicaţii va fi marcată cu unul dintre indicii 1, 3 sau 4, depinzând de gravitate: mică (serom plagă), medie (infecţie urinară), respectiv mare (retenţie acută de urină).

Indicele global de gravitate pentru fiecare procedeu în parte este prezentat în tabelul III.

Se observă din tabel că indicele global de gravitate este mai mic pentru tehnica imaginată de autor, ceea ce ne permite să afirmăm că acest procedeu de tratament este superior procedeului Dan Alessandrescu.

DISCUŢII

Complicaţii intraoperatorii

- Sângerările în timpul creării celor două tunele retrosimfizare (ce pot fi reduse prin folosirea unei pense speciale cu diametrul de maxim 2 mm). Sângerările la nivelul celor două tunele create se pot controla prin plasarea a două tuburi de dren exteriorizate suprasimfizar.
- Sângerările majore şi interesarea vezicii, prezente într-un singur caz, au fost rezolvate în timpul aceleiaşi intervenţii.

Complicaţii postoperatorii imediate

- Retenţia acută de urină: după scoaterea sondei la 24-48 de ore atunci când pacienta prezintă un reziduu vezical > 50 mL, se repune sonda pentru aproximativ 72 de ore cu „reeducarea detrusorului”. Ca tratamente asociate se folosesc instilaţii cu xilină, kanamicină, protargol 1-2%, ser fiziologic.

TABELUL IV

Compararea celor două tehnici

Criterii de comparaţie	Tehnica D.A.	Artificiu autor
Procedeu uşor de realizat	Da	Da
Cale de abord facilă	Da	Da
Complicaţii majore	1%	0,5%
Absenţa exitusului datorat procedeului operator	Da	Da
Complicaţii minore comparabile cu alte procedee	Da	Da
Complicaţie tardivă – elitrocel	7,1%	4,4%
Spitalizare redusă, mobilizare precoce	Da	Da
Costuri reduse, comparativ cu alte tehnici (TOT, TVT, IVS)	Da	Da
Ofera suport vezicii urinare şi peretelui vaginal	Da	Da
Rezolva şi leziunile asociate (alungirea hipertrofică de col, leiomiofibrom, IUE)	Da	Da
Profilaxia cancerului de col şi corp uterin	Da	Da
Afectarea vieţii sexuale	Nu	Da
Consolidarea planşeului perineal posterior	Nu	Da
Gradul de prolaps cu IUE la care se adresează	Toate	Gr. III cu IUE

- Seromul plăgii - 2 cazuri.
- Infecţia plăgii - 1 caz.

Complicaţii postoperatorii tardive

- Fistule urogenitale - 0.
- IUE recidivat - 9.
- Elitrocel - 8.

CONCLUZII

Dintre cele 200 de procedee chirurgicale care se adresează rezolvării acestui tip de patologie, considerăm că istmopexia procedeu Dan Alessandrescu, care şi-a arătat valoarea în timp (peste 30 de ani), este o variantă sigură şi de ales; alături de ea se poate considera că tehnica imaginată de autor poate constitui un element de referinţă valabil în aplicarea unui tratament corect chirurgical, mai ales la femeile care nu mai au viaţă sexuală, asigurând un risc minim de recidivă (elitrocel, rectocel).

T.A. se poate aplica şi în rezolvarea chirurgicală a prolapsului de boltă vaginală, cu sau fără IUE.

Costurile de materiale în cazul acestor tehnici, comparativ cu tehnicile T.O.T., T.V.T., I.V.S. - unde se folosesc plase, sunt net în favoarea primelor.

Pentru realizarea studiului nu au existat conflicte de interese din partea autorilor şi lucrarea s-a efectuat cu acordul comisiei de etică a instituţiei.

BIBLIOGRAFIE

1. Bănceanu G, Toader DO, Ioan RG. *Prolapsul genital asociat cu incontinenţa urinară la efort.* Bucureşti: Ed. Universitară “Carol Davila”, 2006.
2. Bumbu M. Indicaţii chirurgicale actuale în incontinenţa urinară de efort şi prolaps urogenital. Al III-lea Congres al Societăţii Romane de Uroginecologie 2007, Abstract book: 35.
3. Alessandrescu D, Poiană N. Principii terapeutice în terapia cistocelului per magna. Istmopexia. *Obst Ginec* 1984; XXX: 3: 14-18.
4. Poiană N, Saba NG. *Incontinenţa urinară de efort la femei.* Bucureşti: Ed. Universitară “Carol Davila”, 2003.

NOUTĂŢI

ROLUL NEUROGENEZEI CONTINUE ÎN MENŢINEREA INTEGRITĂŢII STRUCTURALE ŞI FUNCŢIONALE A CREIERULUI ADULT

Importanţa funcţională a neurogenezei la adult este încă neelucidată. Utilizând tehnici de marcare şi amprentare genică la şoarecele adult, s-a evidenţiat faptul că neurogeneza continuă constă în înlocuirea majorităţii granulaţiilor neuronale din bulbul olfactiv, precum şi în adiţia substanţială de granulaţii neuronale spre girusul hipocampic. Ablaţia genetică a noilor neuroni formaţi la şoarecele adult conduce la o scădere gradată a numărului de celule granulare din bulbul olfactiv şi respectiv inhibarea masivă a numărului de celule granulare din girusul hipocampic, cu afectarea comportamentală şi a memoriei hipocampo-dependente. Aceste rezultate sugerează că neurogeneza este necesară la adult pentru menţinerea şi respectarea întregului sistem neuronal în bulbul olfactiv, precum şi pentru modularea şi perfecţionarea circuitelor neuronale existente în girusul hipocampic (Imayashi I et al. Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain. *Nat Neur* 2008; 11: 1153-1161).

Carmen Zamfir

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

NOI TENDINŢE IN ELIBERAREA CONTROLATĂ DE MEDICAMENTE - LIPOZOMI IMOBILIZAŢI ÎN MATRICI POLIMERE

Cătălina Peptu[1], Anca Jătariu[1], Anca Indrei[2], M. Popa[1]
Universitatea Tehnică "Gh. Asachi" Iaşi
Facultatea de Inginerie Chimică şi Protecţia Mediului
1. Catedra de Polimeri Naturali şi Sintetici
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
2. Disciplina de Anatomie şi Embriologie

NEW TENDENCIES IN CONTROLLED DRUG RELEASE - LIPOSOMES ENTRAPPED IN POLYMER MATRICES (Abstract): Liposomes entrapment in different forms of polymers represents in the last few years a method to modify the drug release kinetics in order to attend the specificity of this phenomenon. This will result generally in complex systems in which liposomes are dispersed in polymer matrices like gels, hydrogels and microparticles. As a consequence the drug release will be influenced by both polymer matrix and small carrier entrapped in. The researchers are trying to control the release of drug from such solid complex system by modulating not only the vesicle properties but also those of polymer support. This kind of system is necessary also for the cases when time stable liposomes are desired, being already well known that the major drawback of this type of carrier is the stability in time and in different physiologic conditions. **Key words**: LIPOSOMES, POLYMERS, HYDROGELS, CONTROLLED DRUG RELEASE

Datorită înţelegerii din ce în ce mai aprofundate a corpului uman de către cercetători şi a exploziei de noi şi potenţiale tratamente în urma descoperirii moleculelor bioactive şi a terapiilor genice, cercetarea farmaceutică se află în pragul unui progres important. Însă acest nou salt aduce în discuţie întrebări şi provocări atât asupra dezvoltării de noi medicamente cât şi asupra mecanismelor de administrare a acestora.

Metodele actuale de eliberare a medicamentelor prezintă probleme specifice pe care cercetătorii încearcă să le rezolve. De exemplu, multe efecte terapeutice ale medicamentelor sunt limitate din cauza degradării parţiale ce apare înainte ca acestea să atingă ţinta specifică din corp. O dată ingerat, medicamentul este eliberat în timp menţinând o concentraţie plasmatică constantă, asigurând astfel scăderea simptomelor şi protecţie împotriva efectelor adverse doar atunci când este necesar. Mai mult decât atât, tratamentul injectabil ar putea fi înlocuit la costuri reduse cu aceleaşi medicamente administrate pe cale orală. Însă această îmbunătăţire nu poate avea loc până când nu sunt dezvoltate metode sigure ale transportului medicamentelor în zonele specifice ale corpului, cum ar fi, de exemplu, prin stomac, unde pH-ul poate distruge medicamentul, sau în zone unde osul sau ţesutul sănătos pot fi afectate.

Terapia ţintită a constituit principala preocupare a cercetătorilor spre finalul ultimului secol. Ea are la baza sisteme transportoare de medicamente care, în mod ideal, ignoră părţile sănătoase ale corpului şi se îndreaptă spre zonele care au nevoie de tratament. Recent, noile proiecte de cercetare au transformat sistemele de eliberare controlată dintr-un concept intelectual inovator într-o puternică ştiinţă exactă. În primul rând, un numar crescut de molecule biologice este acum recunoscut ca având liganzi cu afinitate specifică pentru anumiţi receptori de pe suprafaţa celulară. În al doilea rând, noile descoperiri în producerea de anticorpi monoclonali au facut posibilă obţinerea unei mari cantităţi de imunoglobuline, acestea având specificitate crescută pentru antigenele individuale. Acestea sunt doar câteva exemple cu privire la dezvoltarea ştiinţei, doar din punct de vedere biologic şi biochimic. Noile tehnici sunt, însă, aplicabile doar prin folosirea unor suporturi adecvate pentru principii active biologice şi farmaceutice. Necesitatea acestui tip de materiale suport a evoluat pe două direcţii, şi anume: crearea de noi materiale şi mai buna înţelegere a manipulării celor deja existente. Cerinţele actuale sunt: reducerea toxicităţii medicamentelor, creşterea absorbţiei lor şi îmbunătăţirea profilului de eliberare (1). Cercetările în domeniu încearcă folosirea polimerilor pentru rezolvarea acestor probleme. Polimerii sunt deja utilizaţi în industria farmaceutică ca adjuvanţi în obţinerea tabletelor, având rol de control al vâscozităţii în lichide, suspensii şi emulsii. Polimerii pot fi folosiţi şi ca filme de acoperire pentru mascarea gustului neplăcut al unor medicamente, pentru creşterea stabilităţii acestora şi pentru modificarea caracteristicilor de eliberare.

Pentru a obţine un sistem de eliberarea controlată de succes a medicamentului, trebuie folosită o matrice polimeră adecvată. Polimerul poate fi sau nu degradabil; polimerii nedegradabili prezinta un major dezavantaj deoarece este nevoie de o intervenţie chirurgicală pentru a fi eliminaţi din organism după ce au eliberat medicamentul. Din aceasta cauză polimerii nedegradabili sunt folosiţi doar în cazurile în care îndepărtarea implantului (insertului) se poate face uşor (de exemplu, un insert ocular). In majoritatea aplicaţiilor sunt preferaţi polimerii biodegradabili deoarece nu necesită îndepărtare chirurgicală, cu condiţia ca în urma degradării lor să rezulte produşi netoxici pentru organism.

Sistemele polimere de eliberare controlată prezinta 3 avantaje majore (2):

- *Eliberarea localizată a medicamentului* - produsul poate fi fi implantat/injectat direct la locul unde trebuie să acţioneze medicamentul, reducându-se astfel expunerea sa sistemică. Acest lucru este important în cazul unor medicamente toxice care sunt bine cunoscute pentru efectele secundare sistemice (cele utilizate în chimioterapie);
- *Eliberarea controlată a medicamentului* - perioada de eliberare a medicamentelor încapsulate este prelungită şi astfel este eliminată administrarea repetată. Această trăsătură poate îmbunătăţi condiţiile de viaţă ale pacientului, mai ales în cazul bolnavilor cronici care au nevoie de injecţii frecvente (de exemplu, deficienţa anumitor proteine).
- *Stabilizarea medicamentului* - polimerul poate proteja medicamentul împotriva mediului fiziologic îmbunătăţind astfel stabilitatea lui *in vivo*. Această tehnologie devine atractivă datorită perspectivelor pentru eliberarea unor medicamente instabile cum ar fi proteinele.

Cercetarile recente au aratat că materialele de tip hidrogel pot fi folosite pentru transportul unor medicamente prin stomac şi intestin. Hidrogelurile sunt reţele polimerice hidrofile, cu permeabilitate crescută pentru diferiţi compuşi medicamentoşi şi stabilitate în mediu acid. Hidrogelurile se "umflă" şi prin difuzie pot include şi elibera principiul activ inclus. În funcţie de compoziţia chimică a gelului pot fi folosiţi diferiţi stimuli externi şi interni (modificarea pH-ului, aplicarea de câmp magnetic sau electric, modificarea temperaturii, iradierea cu ultrasunete) pentru a încetini/grăbi procesul de difuzie.

Cu toate acestea polimerii prezintă şi câteva dezavantaje importante:

- Capacitate redusă de transport al medicamentelor
- Eliberare incompletă a medicamentului
- Distribuţie necontrolată a medicamentului în interiorul suportului polimeric
- Uneori degradarea poate fi neliniară

Pentru eliminarea acestora, o parte din cercetători şi-au îndreptat atenţia asupra utilizării lipozomilor ca sisteme de eliberare a medicamentelor, deoarece aceştia oferă opţiuni şi oportunităţi pentru realizarea unor terapii medicamentoase ce presupun biostabilitatea medicamentului precum şi/sau ţintirea unor anumite zone ale corpului. În ultimele trei decenii, sistemele lipozomale au fost numite, în mod optimist *sfere magice (magic bullets)*. S-au obţinut astfel diferite tipuri de lipozomi care ofera un nivel ridicat de specificitate pentru medicament. În funcţie de dimensiunea veziculelor, forma, morfologia suprafeţei, compoziţie, sarcini de suprafaţă şi fluiditatea dintre straturile lipidice, sistemele lipozomale pot încorpora un spectru larg de principii active; lipozomii pot transporta chiar liganzi celulari specifici, demonstrând astfel importanţa lor clinică şi terapeutică (3).

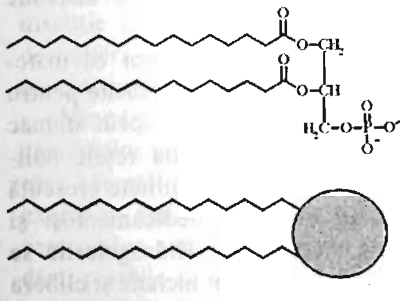


Fig. 1. Structura chimică şi reprezentarea schematică a unui fosfolipid (lecitina)

Lipozomii sunt vezicule sferice mici compuse din membrane lipide amfifile ce încapsulează un miez apos. Lipidele componente sunt predominant fosfolipide care se autoasamblează în straturi duble similare membranelor biologice (fig. 1). În funcţie de modul de obţinere şi de compoziţia chimică, lipozomii sunt formaţi din unul sau mai multe straturi duble concentrice.

Lipozomii diferă în funcţie de mărime şi numărul de straturi concentrice. În tabelul I sunt sistematizate principalele tipuri de lipozomi precum şi denumirile acestora în funcţie de dimensiuni şi de metoda de preparare (4).

Lipozomii se formează spontan atunci când fosfolipidele sunt introduse în apă în condiţiile unei temperaturi mai mari decât temperatura lor de tranziţie. SUV-urile sunt obţinute frecvent din MLV-uri folosindu-se o tehnică adecvată, omogenizare sub presiune, ultrasonicare. Alegerea componentelor ce formează statul dublu determină rigiditatea sau fluiditatea acestuia precum şi încărcătura bistratului. Un avantaj major al lipozomilor este acela ca pot fi preparaţi astfel încât să poată îngloba principii active atât în compartimentul apos cât şi în interiorul membranei lipidice. Importanţa utilizării lipozomilor pentru eliberarea controlată de medicamente derivă din faptul ca aceştia pot fi obtinuţi din lipide identice cu cele ale porţiunii lipidice din membrana celulară - *marea de fosfolipide* (5). Această proprietate împreună cu structura lipozomilor şi posibilitatea de a încapsula atât substanţe hidrofile cât şi hidrofobe, constituie cel mai mare avantaj al lipozomilor în domeniul eliberării de medicamente.

TABELUL I

Clasificarea şi denumirea principalelor tipuri de lipozomi, după dimensiuni, structură şi metoda de preparare

<table>
<tr><th colspan="3">Nomenclatură şi clasificare</th></tr>
<tr><th colspan="3">După structura şi dimensiunea lipozomilor</th></tr>
<tr><th>Denumire</th><th>Denumire prescurtată</th><th>Dimensiune</th></tr>
<tr><td>Vezicule multilamelare mari</td><td>MLV</td><td>> 0,5 µm</td></tr>
<tr><td>Vezicule oligolamelare</td><td>OLV</td><td>0,1 – 1 µm</td></tr>
<tr><td>Vezicule unilamelare</td><td>UV</td><td>Toate dimensiunile</td></tr>
<tr><td>Vezicule unilamelare mici</td><td>SUV</td><td>20 – 100 nm</td></tr>
<tr><td>Vezicule unilamelare medii</td><td>MUV</td><td>100 – 500 nm</td></tr>
<tr><td>Vezicule unilamelare mari</td><td>LUV</td><td>> 100 nm</td></tr>
<tr><td>Vezicule unilamelare gigant</td><td>GUV</td><td>> 1 µm</td></tr>
<tr><td>Vezicule multiveziculare</td><td>MVV</td><td>> 1 µm</td></tr>
<tr><th colspan="3">După metoda de preparare</th></tr>
<tr><th colspan="2">Denumire</th><th>Denumire prescurtată</th></tr>
<tr><td colspan="2">Vezicule preparate prin evaporare de fază inversă</td><td>REV</td></tr>
<tr><td colspan="2">Vezicule multilamelare preparate prin evaporare de fază inversă</td><td>MLV-REV</td></tr>
<tr><td colspan="2">Vezicule stabile plurilamelare</td><td>SPLV</td></tr>
<tr><td colspan="2">MLV îngheţate şi dezgheţate</td><td>FATMLV</td></tr>
<tr><td colspan="2">Vezicule preparate prin extrudere</td><td>VET</td></tr>
<tr><td colspan="2">Vezicule preparate prin French Press</td><td>FPV</td></tr>
<tr><td colspan="2">Vezicule preparate prin fuziune</td><td>FUV</td></tr>
<tr><td colspan="2">Vezicule preparate prin deshidratare - rehidratare</td><td>DRS</td></tr>
<tr><td colspan="2">Bubblezomi</td><td>BSV</td></tr>
</table>

Lipozomii sunt utilizaţi astăzi în multe domenii ale sănătăţii: diagnostic, chimioterapie, boli infecţioase, boli metabolice dobândite, imunoterapie şi terapie genică. În urma testelor *in vivo* s-a observat că, indiferent de compoziţia membranei, lipozomii interacţionează aproape exclusiv cu părţi ale sistemului monocit fagocitar (MPS - cunoscut şi ca RES, sistem reticulo-endotelial), mai exact cu ficatul, splina, ganglioni limfatici şi măduva. Aceste organe au rolul de a verifica agenţii străini ce intră în corp. Lipozomii sunt rapid degradaţi de către celulele fagocitare în lizozomi, materialul încapsulat fiind astfel eliberat, iar dupa exocitoză, acesta este preluat de citoplasma celulară sau de spaţiile intercelulare. Testele "in vivo" au arătat o modificare a distribuţiei medicamentelor încapsulate în lipozomi după administrarea parenterală, comparativ cu distribuţia medicamentului liber. S-a constatat, de asemenea, că efectele toxice sistemice pot fi reduse considerabil, în timp ce concentraţia medicamentului în contact cu organul afectat creşte de câteva ori faţă de medicamentul administrat clasic. Lipozomii pot fi folosiţi în terapia bolilor intracelulare ale macrofagelor precum: leişmaniaza şi infecţiile fungice profunde, a bolilor ce implică ţesuturile ficatului sau ale plămânului. Aceştia sunt eficienţi şi în tratarea tumorilor deoarece se acumulează în cantităţi mari în interiorul acestora putând, de asemenea, încapsula stimulatori ai macrofagelor ce vor activa monocitele necesare pentru *uciderea* celulelor tumorale (6).

Versatilitatea lipozomilor se datorează în principal unor caracteristici foarte importante. Astfel, stratul dublu lipidic exterior este reactiv chimic, oferind astfel un mijloc convenabil de cuplare a "capetelor" la o bază covalentă. Aceste "capete" pot fi anticorpi, antigene, receptori celulari, lanţuri de acid nucleic, etc. O altă caracteristică este aceea că miezul lipozomilor poate încapsula până la milioane de molecule *marker* generatoare de semnal, care pot fi detectate în diferite moduri. Pot fi astfel încapsulaţi diferiţi *markeri* a căror prezenţă poate fi detectată vizual (bistratul lipidic este transparent), precum şi coloranţi detec-

TABELUL II

Principalele caracteristici ale lipozomilor şi motivele utilizării lor pentru eliberarea de medicamente

Caracteristica lipozomilor	**Motivul utilizării lipozomilor în eliberarea controlată**
Solubilizarea	Lipozomii pot solubiliza principii active lipofile, ce altfel ar fi dificil de administrat intravenos
Protecţia	Principiile active încapsulate în lipozomi sunt inaccesibile enzimelor de metabolizare; componentele corpului (de ex. eritrocitele) nu sunt expuse direct întregii doze de medicament
Durata de acţiune	Lipozomii pot prelungi durata de acţiune a medicamentelor prin eliberarea lentă în organism
Potenţial de direcţionare	Opţiunea de direcţionare a principiului activ modifică biodistribuţia acestuia în organism
Internalizarea	Lipozomii sunt endocitaţi sau fagocitaţi de către celule, deschizând astfel posibilitatea eliberării principiului activ în interiorul acestora; Lipozomii sunt capabili de a aduce materiale plasmatice în interiorul celulelor prin acelaşi mecanism („sisteme nonvirale de transfecţie")
Amplificarea	Lipozomii pot fi utilizaţi ca adjuvanţi în tehnologia vaccinurilor

tabili optic sau fluorimetric, enzime şi compuşi electroactivi.

În tabelul II sunt sistematizate principalele motive ce stau la baza utilizării lipozomilor în eliberarea controlată de principii active.

În funcţie de tipul de lipozomi utilizaţi, aceştia pot fi utilizaţi pentru eliberarea diferitelor principii biologic active la diferite „ţinte", după cum se poate observa şi în tabelul III.

Pentru a aprecia pe deplin potenţialul, dar şi limitările conceptului de ţintire utilizând lipozomi injectaţi direct în fluxul sanguin, este esenţială înţelegerea condiţiilor fizio - patologice şi anatomice ce controlează activitatea particulelor coloidale în organism. Modificările de suprafaţă ale lipozomilor îi diferenţiază din punctul de vedere al ţintirii diferitelor zone.

Lipozomii convenţionali sunt lipozomi cu suprafeţe nemodificate şi pot fi dezintegraţi în fluxul sanguin sau pot fi preluaţi de către macrofage (celule „Kupffer") spre ficat sau splină. Viteza de preluare a lipozomilor de către aceste celule depinde de rigiditatea stratului lor dublu şi de dimensiunea lor. Astfel, lipozomii de dimensiuni mici tind să circule în sânge timp de câteva ore.

Acest neajuns al lipozomilor de a prezenta un timp de circulaţie foarte scurt, a fost transformat într-una dintre modalităţile de a trata infecţiile intracelulare. Un alt scop terapeutic a fost identificat în posibilitatea de a elibera agenţi imunomodulatori (cum este de exemplu muramil di- sau tripeptida) pentru a îmbunătăţi activitatea antitumorală şi antivirală a macrofagelor (7,8).

O adevărată provocare a lumii ştiinţifice o reprezintă realizarea de lipozomi care să ţintească un organ sau ţesut specific. O soluţie a fost aceea a ataşării covalente de anticorpi pe suprafaţa lipozomilor, rezultând astfel imunolipozomii. Astfel, au fost raportaţi recent lipozomi purtători de medicamente, având pe suprafaţă ca agenţi de direcţionare molecule de peptide, în scopul blocării angiogenezei (9). Pentru ţintirea celulelor hepatice au fost studiaţi lipozomii ce prezintă pe suprafaţă „antene" de zaharide (galactoză).

TABELUL III

Organele „ţintă" şi lipozomii utilizaţi

Potenţialul „targeting" al diferitelor tipuri de lipozomi	
Tipul de lipozomi	**Potenţialul „targeting"**
Lipozomi convenţionali	„Targeting" – ul macrofagelor
Lipozomi cu circulaţie prelungită	„Targeting" – ul selectiv al diferitelor zone patologice Microrezervoare circulante
Imunolipozomi	„Targeting" – specific

În ciuda acestor avantaje exista un obstacol pentru administrarea de medicamente la nivel sistemic. Lipozomii sunt rapid eliminaţi din fluxul sangvin prin preluarea lor de catre sistemul reticulo-endotelial, uneori în mai puţin de 24 de ore, o mare parte din medicament fiind astfel pierdută. Au fost astfel dezvoltate o serie de strategii pentru protejarea acestora împotriva eliminării rapide prin recunoaşterea lor de către sistemul imunitar. Una dintre acestea constă în includerea lipozomilor purtători de medicamente în matrici polimere; astfel, pentru a ajunge în organism, medicamentul va trebui să fie intai eliberat din lipozomi şi să străbată apoi matricea polimeră.

Între sistemele polimere şi sistemele bazate pe lipide pot fi găsite multe puncte comune în ce priveşte prepararea, caracterizarea şi aplicaţiile, dar pe de altă parte există şi multe diferenţe. De exemplu, sistemele bazate pe lipide suferă adesea de instabilitate, în timp ce sistemele polimerice sunt în mod normal stabile, dar uneori eliberează prea repede principiile active; sistemele bazate pe lipide sunt în mod normal mai biocompatibile decât sistemele polimere, deoarece lipidele aparţin corpului uman. Se poate presupune deci că o combinare adecvată a sistemelor polimerice cu cele lipidice ar putea integra avantajele celor două clase de materiale, evitând dezavantajele lor individuale şi conducând astfel către noi aplicaţii.

Cercetătorii din întreaga lume sunt preocupaţi cu găsirea de noi soluţii pentru stabilizarea lipozomilor în timp şi în diferite medii, precum şi pentru îmbunătăţirea timpului de eliberare. Câteva exemple reprezentative ale realizărilor în acest domeniu sunt prezentate în continuare.

1. **Lipozomi** *acoperiţi/mascaţi ("stealth" liposomes)*

a) În 1992, cercetătorii au descoperit că prin acoperirea lipozomilor cu polimeri inactivi, cum ar fi poli(etilen glicolul) (PEG), creşte semnificativ abilitatea acestora de a evita recunoaşterea de către sistemul imunitar. S. Dadashzadeh et al. au comparat efectul topotecanului (medicament antitumoral) încapsulat în lipozomi cu efectul aceluiaşi medicament încapsulat în lipozomi acoperiţi cu PEG. Rezultatele *in vivo* au demonstrat o distribuţie îmbunătăţită a topotecanului în cazul folosirii lipozomilor, comparativ cu medicamentul liber, însă rezultate şi mai bune au fost observate în cazul folosirii lipozomilor acoperişi cu PEG (10).

b) Poli(amino acizii) (PAA) au fost evaluaţi ca polimeri de acoperire pentru lipozomii destinaţi circulaţiei îndelungate în organism. Farmacocinetica lipozomilor acoperiţi cu PAA a fost evaluată la şobolani şi s-a observat că timpii de circulaţie obtinuţi au fost comparabili cu cei obtinuţi pentru lipozomii acoperiţi cu PEG (11).

c) Prin studierea lipozomilor acoperiţi cu poli (alcool vinilic) (PVA) s-a observat că aceştia prezintă o eficienţă de încapsulare mai mare decât lipozomii neacoperiţi şi au o perioadă de eliberare mai îndelungată. Pe baza rezultatelor obţinute s-a putut afirma că un strat polimeric mai gros la suprafaţa lipozomilor poate îmbunătăţi stabilitatea fizică a acestora (12).

d) Există un studiu care demonstrează că lipozomii acoperiţi cu fibroina extrasă din mătase sunt mult mai eficienţi în a suprima creşterea celulelor Her2/*neu* (celule specifice cancerului de sân) comparativ cu lipozomii neacoperiţi (13).

e) Au fost efectuate studii privind influenţa concentraţiei chitosanului şi a compoziţiei lipozomilor asupra caracteristicilor lipozomilor acoperiti cu chitosan, precum şi asupra interacţiunilor lor cu *leuprolid*-ul (folosit în tratamentul cancerului hormonal). Similar particulelor lipidice de puritate ridicată, acoperirea cu polimer la concentraţii scăzute ale polimerului duce la flocularea acestora, în timp ce la concentraţii crescute moleculele de chitosan adsorbite pot oferi stabilitate sterică. Acoperirea cu chitosan scade eficienţa lipozomilor de încapsulare a medicamentului prin modificarea stratului dublu. Interacţiunea dintre chitosan şi grupele polare de la suprafaţa bistratului fosfolipidic poate interfera cu leuprolidul încapsulat în lipozomi obţinându-se astfel eliberarea medicamentului (14).

f) SUV acoperiţi cu colagen, folosind rapoarte lipid/polimer adecvate, vor prezenta o stabilitate crescută a membranei lipozomale *in vitro*, fără a perturba fluiditatea acestora. Acest efect sugerează că un sistem de eliberare întârziat al medicamentelor solubile în apă poate fi îmbunătăţit semnificativ dacă s-ar folosi lipozomi acoperiţi cu colagen (15).

Acoperirea cu PEG inhibă adsorbţia proteinelor şi opsonizarea lipozomilor, evitând şi întârziind astfel recunoaşterea lor de către RES. Aceşti lipozomi acoperiţi cu PEG sunt stabili steric şi sunt numiţi şi *lipozomi mascaţi*. Efectul de stabilizare a PEG-ului provine de la concentrarea locală pe suprafaţa a unor grupari funcţionale înalt hidratate care inhibă steric atât interacţiile hidrofobice cât şi cele electrostatice ale suprafaţei lipozomilor cu o serie de componente sanguine. PEG este cel mai cunoscut polimer folosit pentru acoperirea lipozomilor însă s-a aratat că există şi alti polimeri care îi protejează împotriva opsonizării şi prelungesc timpul de circulaţie al acestora (16,17).

Lipozomii *mascaţi* prin acoperire cu PEG au fost frecvent studiaţi pentru eliberare de medicamente şi diagnostic datorită eliberării prelungite în circulaţia sangvină. Cu toate acestea, câteva studii recente au demonstrat că lipozomii acoperiţi cu PEG sunt rapid eliminaţi la o singura doză scăzută de lipide şi după administrări repetate (intervalul de timp dintre injecţii 5 zile - 4 săptămâni). Recent, au fost studiaţi lipozomii acoperiti cu poli(amino acizi), ca o alternativă a lipozomilor acoperiţi cu PEG. În urma evaluării comportamentului farmacocinetic al lipozomilor acoperiţi cu poli(aminoacid)-ul, poli(hidroxil-L-asparagina) (PHEA) s-a observat o menţinere a comportamentului farmacocinetic chiar şi la doze mici de administrare şi dupa administrări repetate la şobolani (18).

2. **Lipozomii in hidrogeluri**

a) A fost deja demonstrat că lipozomii încarcaţi cu medicamente pot fi incapsulaţi în geluri fizice de PVA sau poli(acid metacrilic) PMA şi că există o corelaţie între parametrii reologici şi viteza de eliberare a medicamentului (19).

b) Lipozomi pe bază de fosfatidilcolină, distearoilfosfatidilcolină şi colesterol de diferite dimensiuni şi compoziţii au fost imobilizaţi în hidrogeluri reticulate covalent pe bază de gelatină şi carboximetilceluloză. S-a observat o modificare a cineticii de eliberare a principiului activ în sensul scăderii vitezei de eliberare (chiar şi pentru o moleculă de dimensiuni mici cum este calceina s-a observat că poate fi eliberată timp de mai multe săptămâni pentru anumite compoziţii), dar şi faptul că aceasta depinde de geometria filmului polimer, de dimensiunea şi de compoziţia lipozomilor (20).

3. **Lipozomi în microsfere**

Recent a fost dezvoltat un nou sistem de eliberare a medicamentelor, lipozomi în microsfere pe baza de polimeri biodegradabili (LIM). Lipozomii acoperiţi cu chitosan (pentru păstrarea integrităţii lor) au fost încapsulaţi în microsfere pe bază de polimeri biodegradabili (PLA-PEG-PLA) prin metoda extracţiei/evaporării solventului pentru a forma LIM-uri. Cu ajutorul microscopiei electronice, a metodelor de difracţie a radiatiei laser şi a spectroscopiei de fluorescenţă s-a demonstrat că mărimea particulelor şi morfologia suprafeţei microsferelor polimere nu s-a modificat semnificativ după încapsularea lipozomilor, aceştia rămânând intacţi în interiorul matricii polimere a microsferelor, şi fiind eliberaţi într-o manieră controlabilă. Micşorând dimensiunea lipozomilor şi crescând dimensiunea porilor matricii polimerice a putut fi crescută viteza de eliberare a lipozomilor. Compoziţia şi dimensiunea lipozomilor precum şi compoziţia şi dimensiunile microsferelor polimerice sunt, de fapt, parametrii ce controlează cinetica eliberării lipozomilor şi implicit a principiului activ. Un astfel de sistem ar putea avea aplicaţii în eliberarea controlată de medicamente sau în terapia genică (21).

Lipozomii au fost incapsulaţi şi în microsfere pe baza de dextran. Cinetica de eliberare depinde de viteza de degradare a microsferelor (22).

Alţi cercetători au încercat să creeze un nanosistem constând dintr-un complex format din lipozomi şi nanoparticule de chitosan (CS). Ipoteza de la care s-a pornit a fost că acest nanosistem ar putea combina proprietăţile lipozomilor şi ale nanoparticulelor de chitosan astfel încât va putea fi uşor aplicabil sub forma de instilaţii în ochi, va fi bine tolerat de mucoasa conjunctivală, şi va fi capabil să treacă de bariera mucoasă oculară. Nanoparticulele de chitosan au fost preparate prin metoda gelifierii ionice folosind tripolifosfatul de sodiu şi ulterior au fost uscate împreună cu suspensia de lipozomi prin liofilizare. S-a evaluat apoi toxicitatea *in vitro* a nanocomplexelor şi abilitatea acestora de a pătrunde în celulele epiteliale conjunctivale, precum şi toleranţa *in vivo* a acestora. S-a observat că acestea sunt iniţial reţinute în stratul de mucus şi apoi pătrund în celulele conjunctivale la diferite nivele in funcţie de compoziţie. Nanosistemele au prezentat o toxicitate neglijabilă *in vitro* şi o bună toleranţă *in vivo* (23).

În concluzie, sistemele de tip lipozomi - polimeri trebuie să îmbine într-un mod convenabil proprietăţile fizico - mecanice ale ambelor clase de materiale cu cele legate de eliberarea controlată a principiilor active (strict dependente de structurile chimice ale celor două tipuri de materiale) precum şi cu proprietăţile de biomaterial ale acestora. Cercetarea acestor noi sisteme se situează pe un teritoriu ce este revendicat de mai multe domenii cum ar fi: chimia polimerilor şi a lipidelor, fizica polimerilor şi lipidelor, biomaterialele şi medicina.

BIBLIOGRAFIE

1. Peppas N. Drug delivery. *Chem Eng News* 2002 ; 80 (34) : 39-47.
2. Leong KW. Biodegradable polymers as drug delivery systems. In : *Polymers for Controlled Drug Delivery*. Boca Raton : CRC Press, 1991.
3. Vyas SP, Sihorkar V. Endogenous ligands and carriers in non-immunogenic site-specific drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2000 ; 43 : 101-164.
4. Crommelin DJA et al. *Colloidal Drug Delivery Systems*. Paris : Marcel Dekker, 1994.
5. Scherphof G, Roerdink F, Waite M, Parks J. Disintegration of phosphatidylcholine liposomes in plasma as a result of interaction with high-density lipoproteins. *Biochim Biophys Acta* 1978 ; 542 : 296–307.
6. Rickwood D, Hames BD. *Liposomes – A Practical Approach*. New York : Ed. RRC New, 1990.

7. Crommelin DJA, Schreier H. Liposomes. In : *Colloidal Drug Delivery Systems*. Paris : Marcel Dekker, 1994, 73–190.
8. Schiffelers RM, Storm G, Bakken-Woudenberg IAJM. Liposome-encapsulated amioglycosides in preclinical and clinical studies. *J Antimicrob Chemother* 2001 ; 48 : 333–344.
9. Mastrobattista E, Crommelin DJA, Wilschut J, Storm G. Targeted liposomes for delivery of protein-based drugs into the cytoplasm of tumor cells. *J Liposome Res* 2002 ; 12 (1-2) : 57-65.
10. Dadashzadeh S, Vali AM, Rezaie M. The effect of PEG coating on in vitro cytotoxicity and in vivo disposition of topotecan loaded liposomes in rats. *Int J Pharm* 2008 ; 353 (1-2) : 251-259.
11. Romberg B, Metselaar JM, Baranyi L et al. Poly(amino acid)s : Promising enzymatically degradable stealth coatings for liposomes. *Int J Pharm* 2007 ; 331 (2) : 186-189.
12. Mu X, Zhong Z. Preparation and properties of poly(vinyl alcohol)-stabilized liposomes. *Int J Pharm* 2006 ; 318 (1-2) : 55-61.
13. Cheema SK, Gobin AS, Rhea R., Berestein GL, Newman RA, Mathur AB. Silk fibroin mediated delivery of liposomal emodin to breast cancer cells. *Int J Pharm* 2007 ; 341 (1-2) : 221-229.
14. Guo J, Ping Q, Jiang G, Huang L, Tong Y. Chitosan-coated liposomes : characterization and interaction with leuprolide. *Int J Pharm* 2003 ; 260 (2) : 167-173.
15. Shi X, Ma W, Sun C, Wu S. The aggregation behavior of collagen in aqueous solution and its property of stabilizing liposomes in vitro. *Biomaterials* 2001 ; 22 (12) : 1627-1634.
16. Woodle MC, Lasic DD. Sterically stabilized liposomes. *Biochim Biophys Acta* 1992 ; 1113 : 171-199.
17. Lasic DD, Martin FJ, Gabizon A, Huang SK, Papahadjopoulos D. Sterically stabilized liposomes : a hypothesis on the molecular origin of the extended circulation times. *Biochim Biophys Acta* 1991 ; 1070 : 187-192.
18. Romberg B, Oussoren C, Snel CJ, Carstens MG, Hennink WE, Storm G. Pharmacokinetics of poly(hydroxyethyl-l-asparagine)-coated liposomes is superior over that of PEG-coated liposomes at low lipid dose and upon repeated administration. *Biochim Biophys Acta - Biomembranes* 2007 ; 1768 (3) : 737-743.
19. Budai L, Hajdu M, Budai M et al. Gels and liposomes in optimized ocular drug delivery : Studies on ciprofloxacin formulations. *Int J Pharm* 2007 ; 343 (1-2) : 34-40.
20. Peptu C, Popa M, Antimisiaris S. Release of liposome – encapsulated calcein from liposome entrapping gelatin – carboxymethylcellulose films : a presentation of different possibilities. J Nanosci Nanotech 2008 ; 8 : 1-10.
21. Feng S, Ruan G, Li Q. Fabrication and characterizations of a novel drug delivery device liposomes-in-microsphere (LIM). *Biomaterials* 2004 ; 25 (21) : 5181-5189.
22. Stenekes RJH, Loebis AE, Fernandes CM, Crommelin DJA, Hennink WE. Controlled release of liposomes from biodegradable dextran microspheres : a novel delivery concept. *Pharm Res* 2000 ; 17 (6) : 664-669.
23. Diebold Y, Jarrýn M, Saez V et al.Ocular drug delivery by liposome–chitosan nanoparticles complexes (LCS-NP). *Biomaterials* 2007 ; 28 : 1553–1564.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

ŞTIINŢE FUNDAMENTALE **ARTICOLE ORIGINALE**

STUDIUL REGIUNILOR ORGANIZATOARE NUCLEOLARE ÎN TUMORILE PROSTATICE

Silvia-Lăcrămioara Roznovan[1], Doina Lucia Frâncu[2], Cornelia Amălinei[3], Doiniţa Rădulescu[4]
Spitalul clinic nr.2"C.I.Parhon" Iaşi
1. Laboratorul de Anatomie patologică
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
2. Disciplina de Anatomie
3. Disciplina de Histologie
4. Disciplina de Morfopatologie

STUDY OF NUCLEOLAR ORGANIZER REGIONS IN PROSTATE CANCER (Abstract) **Aim** : To compare the qualitative and quantitative AgNOR scores per nucleus of histological grades. **Material and methods** : Thirty-five needle biopsies from patients with prostate cancer (PC) aged 60 to 75 years were investigated. The morphologic parameters examined on histological specimens were : microscopic patterns, Gleason's histological grades (GLG), and AgNOR scores by automated image analyzer and quantitative AgNOR counts according to the classification, fine granules, large granules, and total granule counts. **Results** : Our data suggest a significant correlation between GLG, AgNOR scores, and the percentage of both AgNOR fine and large granules. In HPIN, AgNOR count was evidently higher (5.56) as compared to normal acinar epithelium, slightly exceeding the level found in well-differentiated carcinoma (5.3). In our cases, the highest AgNOR counts were found in poorly differentiated carcinomas (9.81). AgNOR density in ductal carcinomas (7,61) was close to that in moderately differentiated carcinomas (7.35). **Conclusion** : This simple method may aid diagnostic judgement when interpreting needle biopsies of malignancy and act as a prognostic marker useful for identifying PC of low and high malignancy. **Key words** : ARGYROPHILIC NUCLEOLAR ORGANIZER REGIONS (AgNOR), PROSTATE CANCER

Evaluarea regiunilor organizatoare nucleolare argirofile (AgNOR) a devenit o metodă de lucru folosită pe scară largă în anatomia patologică, nu doar în scopul cercetării ştiinţifice, ci şi în scop diagnostic în patologia tumorală prostatică. (4,17, 21)

Neoplazia intrapitelială prostatică (PIN) ca şi carcinomul de prostată au constituit obiectivul a numeroase studii, privind organizatorii nucleolari, axate în special pe valoarea acestora în aprecierea prognosticului şi eventual în adaptarea unei conduite terapeutice (10,16,14).

În această lucrare ne-am propus să analizăm distribuţia regiunilor organizatoare nucleolare argirofile în PIN şi carcinomul de prostată.

MATERIAL ŞI METODĂ

Au fost examinate 35 de fragmente tisulare prostatice obţinute prin puncţie biopsie prostatică. Fragmentele au fost fixate în formaldehidă 15% şi au fost colorate prin metode uzuale, Hemalaun eozină şi Van Gieson. S-a folosit metoda argentică Ploton care s-a aplicat pe secţiunile incluse la parafină. Reacţia prezintă 3 etape secvenţiale :

- Soluţia de nitrat de Ag.

- Soluţia de argint amoniacal 40 g (nitrat de argint în hidroxid de amoniu apos cu pH=12-13)
- Developarea prin utilizarea soluţiei de formaldehidă 3% ajustată la pH=7 cu acetat de sodiu, apoi la pH=5-6 cu acid formic

REZULTATE

Cuantificarea AgNORs s-a făcut, pe 50 de celule în fiecare caz, în diferite tipuri histologice tumorale, iar statistica descriptivă a calculat semnificaţia rezultatelor obţinute.

Epiteliul prostatic normal prezintă cel mai redus număr de AgNORs, cu media de 1,91, mediana de 1,83 şi modulul de 1,78.

Distribuţia valorilor prezintă o asimetrie pozitivă a rezultatelor individuale, care sunt concentrate în jurul mediei. În HPIN, densitatea formaţiunilor AgNORs creşte evident, fiind de 5,56 (mediana de 5,49 şi modulul de 5,48), valori aproape egale, care arată o simetrie aproape perfectă a rezultatelor individuale, ceea ce demonstrează gradul foarte ridicat de reprezentativitate al mediei . În adenocarcinomul acinar bine diferenţiat, densitatea AgNORs este apropiată de cea din HPIN, dar uşor mai redusă, fiind în medie de 5,31 (mediana de 5,16 şi modulul de 5,17)(fig.1) . Există o simetrie aproape perfectă a rezultatelor individuale, care evidenţiază gradul foarte ridicat de reprezentativitate al valorii medii. În adenocarcinomul acinar moderat diferenţiat, densitatea AgNORs este de 7,35 (mediana şi modulul cu valori identice), existând o simetrie perfectă a rezultatelor individuale şi un grad foarte ridicat de reprezentativitate al valorii medii. În adenocarcinomul acinar slab diferenţiat, densitatea AgNORs are cea mai ridicată valoare medie de 9,81 (mediana 9,88 şi modulul 9,86), distribuţia rezultatelor individuale fiind aproape simetrică (fig.2). Densitatea maximă este de 11,00 şi cea minimă de 8,60. La aceasta se adaugă valorile reduse ale deviaţiei standard (0,61) şi erorii standard (0,10), susţinând astfel gradul foarte ridicat de reprezentativitate al mediei pentru tipul respectiv de carcinom prostatic. În adenocarcinomul ductal, densitatea AgNORs este de 7,61 şi se apropie ca valoare absolută de tipul acinar moderat diferenţiat (7,35). Mediana are valoarea de 7,53 şi modulul de 7,09. Există o asimetrie pozitivă a valorilor individuale, care sunt cuprinse între maxima de 8,69 şi minima de 6,32 şi sunt concentrate în jurul mediei. Valorile medii ale AgNORs în HPIN şi diferite tipuri de carcinoame prostatice, incluzând deviaţia standard (DS), sunt prezentate mai jos (tab. I), valorile sunt reprezentate grafic (fig. 3).

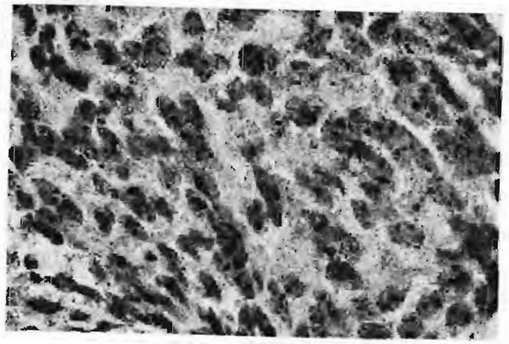


Fig. 1. AgNOR în adenocarcinomul bine diferenţiat

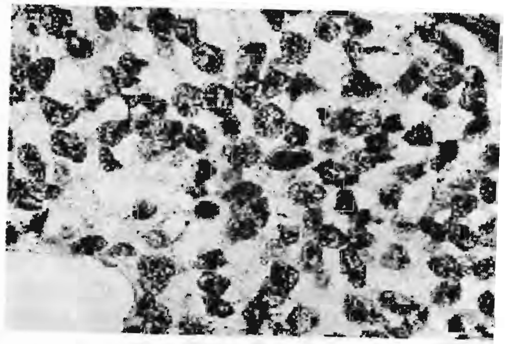


Fig. 2. AgNOR în adenocarcinomul slab diferenţiat

TABELUL I
Valorile medii ale AgNORs cuantificate

Tipul afecţiunii	**AgNORs** (media + DS)
EPN	1,91 ± 0,39
HPIN	5,56 ± 0,75
Acinar 1	5,31 ± 0,90
Acinar 2	7,35 ± 0,61
Acinar 3	9,81 ± 0,61
Ductal	7,61 ± 0,71

EPN – epiteliu prostatic normal, HPIN – neoplazie intraepitelială cu risc crescut, Acinar 1 – carcinom acinar bine diferenţiat, Acinar 2 – carcinom acinar moderat diferenţiat, Acinar 3 – carcinom acinar slab diferenţiat, Ductal – carcinom ductal, DS – deviaţia standard

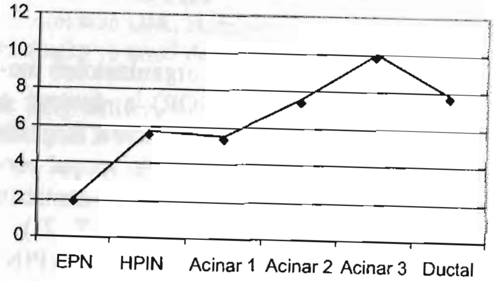


Fig. 3. Reprezentarea grafică a densităţii AgNORs. EPN – epiteliu prostatic normal, HPIN – neoplazie epitelială, Acinar 1 – carcinom acinar bine diferenţiat, Acinar 2 – carcinom acinar moderat diferenţiat, Acinar 3 – carcinom acinar slab diferenţiat, Ductal – carcinom ductal

Numărul AgNOR creşte evident în HPIN (5,56 cu DS 0,75) faţă de epiteliul acinar normal (1,91 cu DS 0,39), depăşind uşor valoarea din carcinoamele bine diferenţiate (5,31 cu DS 0,90). În carcinoamele studiate valoarea maximă se întâlneşte în carcinomul slab diferenţiat (9,81 cu DS 0,61), iar densitatea AgNORs în carcinomul ductal (7,61 cu DS 0,71) se apropie ca valoare absolută de cea din carcinomul acinar moderat diferenţiat (7,35 cu DS 0,61).

DISCUŢII

S-a efectuat un studiu al activităţii proliferative în hiperplazia benignă de prostată, PIN şi carcinoame cu grade diferite de malignitate, determinându-se numărul nucleolilor şi regiunilor organizatoare nucleolare (AgNORs). În studiul efectuat pe 165 de fragmente obţinute prin puncţie biopsie prostatică şi rezecţie transuretrală s-au semnalat diferenţe semnificative între cancerul de prostată cu grad scăzut de malignitate şi grad înalt de malignitate în ceea ce priveşte frecvenţa nucleilor şi numărul AgNOR. Rezultatele noastre confirmă datele din literatură în care numeroşi autori consideră metoda de evidenţiere AgNORs un indicator prognostic de mare acurateţe.

În literatura de specialitate în HPB frecvenţa nucleilor cu nucleoli mici a fost de 0,6% crescând până la 83% în adenoză şi 28,7% în PIN. În carcinoamele cu grad scăzut de malignitate frecvenţa nucleilor cu nucleoli proeminenţi a fost de 41,7% din cazuri, iar în carcinoamele cu grad înalt de malignitate de 81,1% din cazuri. În HPB numărul AgNORs a fost de 1,6-2,5, în adenoză 1,7-5,6, în HPIN 3,2-7,4, în carcinoamele cu grad scăzut de malignitate 2,6-7,9, iar în carcinoamele cu grad crescut de malignitate 3,1-11,4.

Numărul mare al nucleilor cu nucleoli numeroşi şi voluminoşi s-a asociat, în acest studiu, cu un grad crescut de malignitate al carcinoamelor de prostată. În cancerele de prostată cu malignitate scăzută, celulele tumorale au prezentat nuclei cu un singur nucleol situat central şi un număr redus de AgNORs, în timp ce în carcinoamele cu malignitate crescută nucleii celulelor tumorale erau numeroşi cu mai mulţi nucleoli în poziţie excentrică care prezentau un număr crescut de AgNORs (1).

Corelaţiile topografice, histologice şi citologice, precum şi asemănările dintre aspectul nucleolilor şi scorul AgNOR, au permis acestor autori să confirme că PIN este precursorul carcinomului de prostată periferic.

Kobayashi et al. (2) au împărţit pacienţii cu cancer de prostată în două grupuri, cu risc scăzut şi risc înalt, în raport cu valorile AgNORs. Clasificarea carcinoamelor de prostată în cele două grupuri cu malignitate scăzută şi înaltă are o semnificaţie prognostică. În studiul acestor autori, pacienţii cu carcinoame de prostată prezentând valori scăzute ale AgNOR$_s$ au avut o rată de supravieţuire de 60-70% comparativ cu grupul de pacienţi cu valori crescute ale AgNORs la care supravieţuirea a fost de 20-30% din cazuri.

Pe baza studiului AgNOR, de cinetică celulară, citometrie ADN şi subgradingului nucleolar, Kernion et al.(3) raportează o rată de supravieţuire de 10 ani, în proporţie de 60-70% la grupul cu risc scăzut şi de 20-30% în grupul cu risc înalt.

Helpap şi Koch (4) în statistica efectuată pe 226 cazuri, găsesc o rată de supravieţuire de 10 ani în 2,8% din cazuri la grupul cu risc scăzut şi de 38,2% la grupul cu risc înalt.

Alţi autori clasifică pacienţii cu cancer de prostată luaţi în studiu în grupul cu risc scăzut şi risc înalt de malignitate pe baza studiului indicelui de proliferare Ki-67, şi constată rate diferite de supravieţuire a celor două grupuri, precum şi un răspuns diferit la tratamentul hormonal sau radioterapie (1,5,6,7).

În literatură s-au găsit asemănări între adenoză şi carcinomul de prostată cu grad scăzut ca şi între PIN şi carcinoamele cu grad înalt de malignitate, în ceea ce priveşte numărul nucleolilor şi numărul AgNOR$_s$. În adenoză numărul nucleolilor şi numărul AgNOR$_s$ se situează între HPB şi carcinomul cu grad scăzut de malignitate (8,9, 10,11,12). Carcinomul de prostată cu grad înalt de malignitate se corelează cu o frecvenţă mare a nucleolilor şi un număr crescut de AgNOR$_s$ (1,13).

Chiusa et al. (14) pe un număr de 65 pacienţi cu carcinom de prostată trataţi prin hormonoterapie, efectuează pe PBP un studiu morfometric al nucleilor, nucleolilor şi AgNOR$_s$ care a fost corelat cu gradul de diferenţiere, prognosticul şi rata de supravieţuire. Dintre toate determinările efectuate, scorul AgNOR a reprezentat un factor de prognostic independent. Autorii au folosit două sisteme histologice de gradare, reprezentate prin sistemul de gradare a carcinoamelor de prostată conform clasificării OMS(1980) şi sistemul de gradare Gleason. Astfel în carcinoamele de prostată grad 1 scorul AgNOR$_s$ a fost de 5,06, în carcinomul de grad 2 de 7,86, iar în cele de grad 3 a fost de 10,11. Media scorului AgNOR pentru grupul de pacienţi luaţi în studiu a fost de 7,84. În acest studiu numărul AgNOR$_s$ s-a corelat cu indicele de proliferare celulară şi cu creşterea gradului de malignitate a carcinomului de prostată. Autorii sugerează că AgNOR$_s$ arată nu numai o proliferare celulară crescută, ci reprezintă o metodă utilă în aprecierea gradului histologic de diferenţiere. În sistemul de gradare Gleason 6 şi 7, scorul AgNOR a fost de 7,66, iar în sistemul Gleason 8-10, scorul AgNOR era de 9,21. În carcinoamele de grad 1 organizatorii nucleolari erau în număr mic şi grupaţi central la nivelul nucleului, în carcinoamele de grad 2 se prezentau sub formă de 2-3 grămezi, iar în carcinomul de grad 3 sub formă de numeroase puncte mici.

Rata de supravieţuire în cazuistica acestor autori a fost de 60% la 3 ani şi de 39% la 5 ani, iar aceasta scade în raport cu creşterea gradului de diferenţiere. În raport cu scorul AgNOR şi gradul de diferenţiere rata de supravieţuire la 5 ani a fost de 77% la pacienţii cu cancer de grad 2 şi scor AgNOR/celulă <7,84 şi de 12% la pacienţii cu cancer de grad 2 cu scor AgNOR/celulă >7,84. Între pacienţii cu carcinom de grad 1 şi 2 nu au existat diferenţe ale ratei de supravieţuire la un scor AgNOR/celulă >7,84, ele fiind de 75% şi respectiv 77%. În raport cu scorul AgNOR şi sistemul Gleason rata de supravieţuire la 5 ani a fost de 7% la pacienţii cu scor Gleason 6-7 şi AgNOR/celulă >7,84, iar la pacienţii cu scor Gleason 8-10 supravieţuirea a fost mai mică.

Rezultate similare obţin Blom et al. (15), care au subdivizat pacienţii de grad 2 în două subgrupe cu rate de supravieţuire diferite, pe baza estimării morfologice a dimensiunilor nucleilor. În acest caz diferenţa între cele două subgrupuri a fost semnificativă numai prin folosirea concomitentă a morfometriei nucleare cu scorul AgNOR. În acest studiu cuantificarea AgNOR a oferit informaţii prognostice semnificative în carcinoamele de grad 2, care au reprezentat 68% din totalul pacienţilor.

Helpap şi Riede (1), asociind scorul AgNOR cu gradul de diferenţiere histologică, clasifică carcinoamele de grad 2 cu scor Gleason 6 şi 7, în carcinoame cu malignitate scăzută şi activitate proliferativă redusă şi carcinoame cu malignitate înaltă şi activitate proliferativă crescută.

Vesalainen et al. (16) au corelat parametrii morfometrici şi numărul AgNOR$_s$ cu gradul histologic al carcinomului, demonstrând că aria nucleară creşte odată cu gradul histologic. Rezultate asemănătoare au obţinut în cancerul de prostată Deschenes şi Weidner (8) şi Eskelinen et al. (17) folosind de asemenea studiul morfometric al ariilor nucleare şi/sau nucleolare precum şi scorul AgNOR.

Deschenes şi Weidner (8) şi Pich et al. (18) au studiat scorul AgNOR asociat cu gradul de diferenţiere în carcinomul de prostată şi alte tumori maligne, iar Masai et al. (10) şi Kawase et al. (19) folosesc cuantificarea AgNOR în diferenţierea leziunilor prostatice benigne de cele maligne.

Importanţa scorului AgNOR şi a parametrilor morfometrici ca factori de prognostic a fost confirmată la pacienţii cu cancer de prostată trataţi hormonal în numeroase studii (16,20,21).

Deşi cea mai mare parte din studiile publicate în literatura de specialitate demonstrează rolul cuantificării AgNOR ca factor de prognostic în cancerul de prostată şi în diferenţierea leziunilor benigne şi maligne prostatice, unii autori nu ajung la aceleaşi concluzii (9,22). Aceste discrepanţe se datoresc metodelor de numărare şi de colorare folosite, de aceea se propune o metodă standard care a fost acceptată de Comitetul European pentru cuantificarea AgNOR (23).

Kawase et al. (19) propun o clasificare morfologică a AgNOR$_s$ şi o corelare cu PCNA în hiperplazia benignă şi carcinomul de prostată. Autorii au identificat AgNOR în 79 de adenocarcinoame prostatice şi PCNA în 54 de cazuri pe fragmente recoltate prin PBP şi TURP. Ei au efectuat o numărătoare a AgNOR$_s$ localizaţi intranucleolar şi extranucleolar , pe care îi clasifică în tipul A, B, C şi D. În aceste carcinoame de prostată numărul total al AgNOR$_s$ a fost semnificativ mai mare (4,2+/-1,57), comparativ cu hiperplazia benignă de prostată (1,90+/-0,24). Valorile diferite ale AgNOR$_s$ au fost corelate cu gradul histologic, anaplazia nucleară, numărul nucleolilor, mitozele şi invazia vasculară. Numărul cel mai mare a fost reprezentat de AgNOR$_s$ tip B şi C cu localizare intranucleolară. Tipurile de AgNOR$_s$ A şi D extranucleolare nu au fost asociate tipurilor B şi C intranucleolare. Rata de supravieţuire a pacienţilor cu număr crescut de AgNOR$_s$ mai mare de 4,3 a fost semnificativ mai redusă, comparativ cu al pacienţilor cu AgNOR$_s$ mai mic de 4,3. Identificarea prin reacţii imunohistochimice a PCNA a permis autorilor să realizeze o diferenţiere semnificativă a ratei de supravieţuire în grupele PCNA pozitive. Acest studiu sugerează că PCNA este un marker util în aprecierea proliferării celulare în leziunile prostatice, iar cuantificarea AgNOR$_s$ are o valoare importantă în diagnosticul şi prognosticul acestor leziuni.

CONCLUZII

Cuantificarea AgNOR$_s$ are un rol important în diferenţirea leziunilor prostatice benigne de cele maligne. Se atribuie AgNOR$_s$ o semnificaţie diagnostică în cancerul de prostată şi este considerat cel mai semnificativ factor de prognostic individual. Folosirea concomitentă a scorului AgNOR cu morfometria nucleară reprezintă doi parametri suplimentari în diagnosticul morfologic al carcinomului de prostată. Scorul AgNOR crescut se corelează cu creşterea indicelui de proliferare celulară şi gradul histologic de malignitate a carcinoamelor de prostată. Cuantificarea AgNOR$_s$ este folosită în evaluarea duratei de supravieţuire a pacienţilor cu carcinom de prostată, alături de alţi factori, reprezentaţi de gradul histologic sau stadiul patologic al tumorii. Rata de supravieţuire a pacienţilor cu cancer de prostată care au prezentat un număr crescut de AgNOR$_s$ a fost mai mică decât a pacienţilor cu un număr redus de AgNOR.

BIBLIOGRAFIE

1. Helpap B, Riede C. Nucleolar and AgNOR-analysis of prostatic intraepithelial neoplasia (PIN), atypical adenomatous hyperplasia (AHH) and prostatic carcinoma. *Patol Res Pract* 1995 ; 191 : 381-390.
2. Kobayashi S, Kuriyama M, Yamamoto N et al. Nucleolar organizer regions in prostate cancer. *Adv Exp Med Biol* 1992 ; 324 : 183-188.
3. Kernion de JB, Neuwirth H, Stein A et al. Prognosis of patients with stage D1 prostate carcinoma following radical prostatectomy with and without early endocrine therapy. *J Urol* 1990 ; 144 : 700-703.
4. Helpap B, Koch V. Histological and immunohistochemical findings of prostatic carcinoma after external and interstitial radiotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol*1991 ; 117 : 608-614.
5. Sadi M.V.,Barrack E.R. Determination of growth fraction in advanced prostate cancer by Ki-67 immunostaining and its relationship to the time to tumor progression after hormonal therapy. *Cancer* 1991 ; 67 : 3065-3071.
6. Gaffney EF, O'Sullivvan SN, O'Brin A. A major solid undifferentiated carcinoma pattern correlates with tumour progression in locally advanced prostatic carcinoma. *Histopathol* 1992 ; 21 : 249-255.
7. Partin AW, Steinberg GD, Picock RV, Coffey DS, Epstein JI. Use of nucleolar morphometry, Gleason histologic scoring, clinical stage, and age to predict disease free survival among patients with prostate cancer. *Cancer* 1992 ; 70 : 161-168.
8. Deschęnes J, Weidner N. Nucleolar organizer regions(NORs) in hyperplastic and neoplastic prostate disease. *Am J Surg Pathol* 1990 ; 14 : 1148-1155.
9. Contractor H, Ruschoff J, Hanisch T et al. Silverstained structures in prostatic carcinoma,evaluation of diagnostic and prognostic relevance by automated image analysis. *Urol Int* 1991 ; 46 : 9-14.
10. Masai M, Abe K, Akimoto S, Yatani R,Shimazaki J. Argyrophilic nucleolar organizer regions in benign hyperplastic and cancerous human prostates. *Prostate* 1992 ; 20 : 1-13.
11. Sentinelli S, Pizzuti V, Rondanelli E, Viggiani F, Paolini R. Correlation between the nucleolar organizer region in adenocarcinoma of the prostate and the Gleason system. *Pathologica* 1992 ; 84 : 49-55.
12. Magi-Galluzzi CM, Montironi R, Giannulis I et al. Prostatic invasive adenocarcinoma. Effect of combination endocrine therapy (LHRH agoinst and flutamide) on the expression and location of proliferating cell nuclear antigen (PCNA). *Path Res Pract* 1993 ; 189 : 1154-1160.
13. Cheville JC, Clamon GH, Robinson RA. Silverstained nucleolar organizer regions in the differentiation of prostatic hyperplasia, intrepithelial neoplasia, and adenocarcinoma. *Modern Pathol* 1990 ; 3 : 596-598.
14. Chiusa L, Galliano D, Formiconi A, Primio OD, Pich A. High and low risk prostate carcinoma determined by histologic grade and proliferative activity. *Am Cancer Soc* 1997 ; 79 : 1956-1963.
15. Blom JH, Ten Kate FJ, Schroeder FH, Van der Heul RO. Morphometrically estimated variation in nuclear size. A useful tool in grading prostatic cancer. *Urol Res* 1990 ; 18 : 93-99.

16. Vesalainen S, Lipponen P, Talja M, Kasurinen J, Syrjanen K. Nuclear morphometry is of independent prognostic value only in TI prostatic adenocarcinomas. *Prostate* 1995 ; 27 : 110-117.
17. Eskelinen M, Lipponen P, Syrjanen K. Nucleolar organiser regions(AgNORs) related to histopathological characteristics and survival in prostatic adenocarcinoma. *Anticancer Res* 1992 ; 10 : 1635-1640.
18. Pich A, Chiusa L, Margaria E. Role of the argyrophilic nucleolar organizer regions in tumor detection and prognosis.*Cancer Detect Prev* 1995 ; 19 : 282-291.
19. Kawase N, Shiokawa A, Ota H, Saitoh T,Yoshida H, Kazama K. Nucleolar organizer regions and PCNA expression in prostatic cancers. *Pathol Int* 1994 ; 44 :213-222.
20. Tannenbaum M, Tannenbaum S, Desandis PN, Olsson CA. Prognostic significance of nucleolar surface area in prostatic cancer. *Urol* 1982,19,546-551.
21. Wang N, Stenkvist BG, Tribukait B. Morphometry of nuclei of the normal and malignant prostate in relation to DNA ploidy. *Anal Quant Cytol Histol* 1992 ; 14 : 210-216.
22. Akakura K, Akimoto S , Ohki T, Igarashi T, Murakami S, Shimazaki J. Radiation therapy for prostate cancer confined to pelvis. *Int J Urol* 1994 ; 1 : 268-272.
23. Öfner D, Riedman B, Maier H, Hittmair H, Rumer A, Tötsch M. et al. Standardized staining and analysis of argyrophilic nucleolar organizer region assiciated proteins (AgNORs) in radically resected colorectal adenocarcinoma. Correlation with tumour stage and long-term survival. *J Pathol* 1995 ; 175 : 441-448.

NOUTĂŢI

BLOCANŢII TNF-ALFA -TERAPIE FĂRĂ RISCURI ÎN ARTRITA REUMATOIDĂ LA PACIENŢII CU VIRUS HEPATITIC C PREZENT

Conform cercetătorilor italieni, terapia cu blocanţi TNF-alfa pare să nu afecteze în mod nedorit evoluţia hepatitei cronice cu virus C asociate la pacienţii cu artrită reumatoidă. Studiul de la Universitatea din Modena şi Reggio Emilia a fost efectuat pe 31 de pacienţi cu următoarele caracteristici : diagnostic de artrită reumatoidă cu scor de activitate DAS28 > 3,2, lipsă de răspuns la terapia convenţională şi prezenţa infecţiei cu virus C de cel puţin 13 ani. Pacienţii au primit doze standard de terapie biologică, incluzînd Infliximab, Etanercept şi Adalimumab. Eficienţa şi siguranţa tratamentului au fost evaluate după 3 luni de terapie. După acest interval s-au constatat îmbunătăţiri semnificative clinice şi serologice. S-a evidenţiat o ameliorare a valorilor medii a următorilor parametri : viteza de sedimentare a hematiilor- de la 36 la 28mm/ora, scorul DAS28 - de la 5,2 la 2,78 (cu scăderi chiar sub 2.6 la 48% dintre pacienţi). Indexul Ritchie a prezentat o scădere de la 21,6 la 10,1. Ulterior acestor observaţii, 61% dintre pacienţii înrolaţi au continuat terapia TNF-alfa, rezultatele continuînd să fie favorabile şi după o durată medie de 22 de luni. Valorile transaminazelor şi viremiei nu au înregistrat modificări semnificative pe parcursul studiului (în doar 4 cazuri s-au înregistrat creşteri semnificative ale viremiei) şi la un singur caz a fost necesară stoparea terapiei biologice datorită creşterilor persistente ale alaninaminotransferazei (ALT). În lumina acestor date, cercetătorii italieni concluzionează că terapia cu blocanţi TNF-alfa poate fi iniţiată la pacienţii cu artrită reumatoidă care asociază şi hepatita cronică cu virus C, sub controlul periodic al probelor hepatice (în special ALT şi viremie) (Ferri C, Iannone F, Trotta F, Montecucco C, Giacomelli R. TNF-alpha blockers safe for RA patients with HCV infection. *J Rheum* 2008 ; 35 : 1944-1949).

Oana Mihalache-Boştină

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

ŞTIINŢE FUNDAMENTALE **ARTICOLE ORIGINALE**

ADENOSINE INVOLVEMENT ON BRONCHIAL REACTIVITY MODULATION BY DIESEL EXHAUST

Elena Cojocaru[1], Irina Luciana Dumitriu[1], B. Gurzu[1], Ioana Ştefania Ciureanu[1], Maria Dinca[1], M. Costuleanu[2], Simona Mihaela Slătineanu[1], Brigitte Scutaru[3], Gh. Petrescu[1]
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medicine
1. Department of Physiology
2. Department of Physiopathology
3. Institute of Public Health Iaşi

ADENOSINE INVOLVEMENT ON BRONCHOMOTOR EFFECTS OF DIESEL EXHAUST (Abstract): In recent decades, epidemiologic investigations have suggested a strong relationship between air pollution and an increase in the prevalence of allergic rhinitis and asthma. **Aim**: To investigate the possible involvement of adenosine (AD) in bronchomotor effects of diesel exhaust (DE). **Material and method**: Isolated bronchi from ovalbumin (OVA) sensitized rats were challenged in presence or absence of diesel exhaust extract (DEE). AD was delivered on organ bath before or after DEE, at concentrations did not produce significantly contractile effects. **Results**: AD (0.1 μM) pre-treatment increased bronchomotor effects of DEE: amplified the bronchoconstrictor effects of OVA with more than 35% and decreased Emax of terbutaline induced bronchorelaxation of acetylcholine (Ach) preconstricted bronchial rings (up to 20%), but did not significantly modify ACh - induced contractions. OVA - induced contractions, ACh - induced contractions and terbutaline - induced relaxations have not been significantly modified as compare with DEE alone. On the other hand, DEE amplified AD (cumulative doses) contractile effects. **Conclusion**: These results confirmed our initial hypothesis that AD could partial mediate or at least, modulate DEE effects on airway reactivity.

Key words: ADENOSINE, DIESEL EXHAUST, OVALBUMINE, BRONCHIAL REACTIVITY

Adenosine (AD) is an endogenous nucleoside either released from active cells or generated extracellular (1). AD levels in the asthma lungs are increased (2), partly by increased AD releasing from inflamatory cells as a result of IgE receptor stimulation (3). Published data showed that adenosine has bronchoconstrictor effects on asthmatics and could interact and modulate the activity of inflammatory cells (mast cells and basophiles)(4,5).

On the other hand, some authors suggested the existence of a link between diesel exhaust (DE) exposures and an increasing of AD metabolism on human lungs (6).

This study aims to investigate the possible involvement of AD in bronchomotor effects of DE. Isolated bronchi from ovalbumin (OVA) sensitized rats were challenged in presence or absence of AD.

MATERIAL AND METHOD

In all experiments we used bronchial rings obtained from male Wistar rats (150-200 g body weight) housed under standard laboratory conditions, with free access to food and water. Animals were decapitated and exsanguinated and about 4 mm length of the left main bronchus was rapidly removed, and carefully cleaned of adhering connective tissues. Epithelium-intact, 2 mm wide, rat bronchial rings suspended in organ chambers containing saline solution at 37°C, bubbled continuously with a mixture of 95% O_2 and 5% CO_2 (pH = 7.2 - 7.4) and isometric tension was recorded. As saline solution we used a modified Krebs-Henseleit buffer containing (mM): NaCl 118, KCl 4.8, $CaCl_2$ 2.5, $MgSO_4$ 1.6, KH_2PO_4 1.2, $NaHCO_3$ 25, glucose 5.5. A resting tension of 1 g was applied to each bronchial ring and then allowed to equilibrate for 90 minutes before the start of the experiment. The bathing medium was renewed from 15 to 15 minutes and then stimulated twice with the reference contracting agent (acetylcholine, Ach 10 μM), at an interval of 15 min. Preparations with an unstable baseline tension, or with a reference response bellow 0.25 g, or with differences >5% between the two control contractions, were discarded as inadequate for further experimentation. Changes in isometric tension were displayed using a force transducer, a PC-LPM-16 multifunctional I/O board and NiDaqWin software (National Instruments).

Sensitization. The rats were sensitized against OVA by s.c. and i.p. injection of 0.2 mL physiological saline, containing 100 mg OVA and 8 mg aluminum hydroxide. The protocol was repeated 2 weeks later (7).

***In vitro* challenge**. One week after the second sensitization, before starting administering of studied substances, bronchi rings isolated from previously sensitized rats were pre-treated with OVA (100 mg/mL).

Diesel exhaust extract (DEE) was generated as described before (8). Briefly, emissions were taken from a Dacia diesel engine, 1600 ccm. This type of engine was chosen because it is used in Dacia vehicles, which are significant contributors to ambient DE levels. The DE emissions from this diesel engine were passed through a tubing system with two impinge tubes (containing 100 mL of phosphate buffered saline each) submerged in an ice bath. Impinge glassware was washed and heated to remove and destroy endotoxin. Of the two impinge tubes, the emissions that entered and remained in the first (primary) tube, but not in the secondary tube, were utilized for the experimental studies. Extracts were generated and collected during a 1-h period when the engine was under normal load. This type of preparation was chosen because it contains both DE and polar particles and thus water-soluble DE gas-phase components. Aliquots of the DEE were kept at -20°C until use.

Study design. We assessed DEE effects on both ACh - induced bronchoconstriction and relaxation of ACh preconstricted bronchi by terbutaline (TB). DEE was added to organ bath with 20 minutes before OVA challenge. AD (0,1 μM) was administrated with 10 minutes before or after DEE. To examine DEE effects on AD - induced bronchoconstriction we administrated AD (cumulative dose 1 nM - 1μM) after the OVA challenge. Only one type of protocol, including a single angiotensin challenge, was applied in each ring. The response induced by 10 μM Ach was considered as reference (100%) in each preparation. Time-match control experiments with no angiotensin challenge were done in another ring from the same bronchus.

Drugs used. Adenosine, acetylcholine, terbutaline and ovalbumin (grade II) were all obtained from Sigma (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis MO). All the other compounds used were of analytical grade.

Expression of results and statistical analysis. All the results are expressed as percentage of the reference contraction induced in the same ring by 10 μM acetylcholine; mean ± S.E.M. (n=6, from different animals, only one protocol per ring). Statistical significance was tested using oneway analysis of variance (ANOVA), completed with the Bonferroni method (Sigma Stat package from Jandel Scientific Software, San Rafael, CA); $p<0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS

To evaluate AD involvement on DEE bronchomotor effects we used 0.1 μM AD, a concentration at witch AD did not produce any contractile effects. Administration of AD before DEE amplified OVA - induced contractions from 56.24±8.23% to 76.85 ±4.41% ($p<0,05$). Administration of AD after DEE amplified OVA - induced contractions from 56.24±8.23% to 63.01±6.67% ($p>0.05$).

The ACh - induced contractions after OVA - challenge are significantly amplified in presence of DEE (fig. 1). DEE becomes significantly from 0.1 μM (51.65±4.76% compared with 26.82±2.67%, $p<0.05$). Administration of AD (1 μM) before or after DEE did not significantly modify DEE effects on ACh - induced contractions (fig. 1).

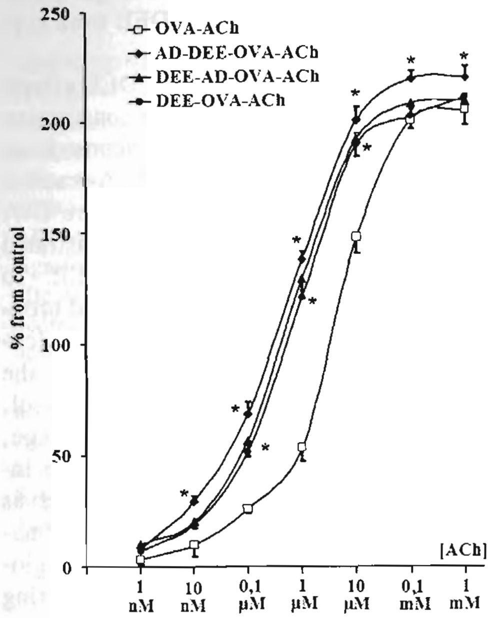


Fig. 1. Acetylcholine (ACh) induced contractions on bronchial rings of ovalbumine (OVA) sensitized and challenged rats in the absence (OVA-ACh) or in the presence of diesel exhaust extract (DEE) and adenosine (AD). AD-DEE-OVA-ACh: ACh - induced contractions after challenge and in presence of DEE after pre-treatment with AD (0.1 μM). DEE-AD-OVA-ACh: ACh - induced contractions after challenge and in presence of AD (0,1 μM) after pre-treatment with DEE. DEE-OVA-ACh: ACh - induced contractions after challenge and in presence of DEE. *: $p<0.05$ as compared with OVA-ACh

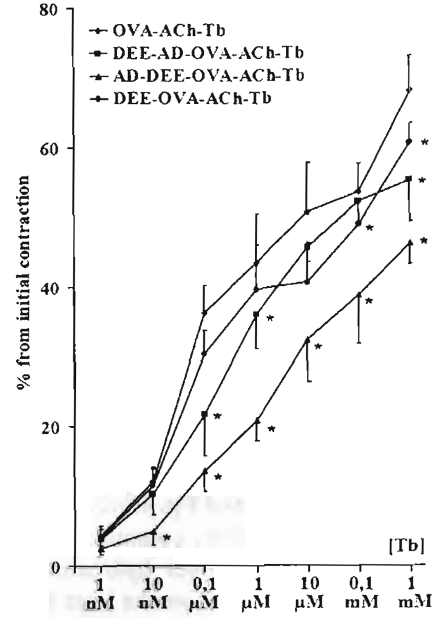


Fig. 2. Terbutaline (TB) induced relaxation of ACh pre-contracted bronchial rings of ovalbumine (OVA) sensitized and challenged rats in the absence (OVA-ACh-TB) or in the presence of diesel exhaust extract (DEE) and adenosine (AD). AD-DEE-OVA-ACh-TB: TB effects after challenge and in presence of DEE after pre-treatment with AD (0.1 μM). DEE-AD-OVA-ACh-TB: TB effects after challenge and in presence of AD (0.1 μM) after pre-treatment with DEE. DEE-OVA-ACh-TB: ACh - induced contractions after challenge and in presence of DEE. *: $p<0.05$ as compared with OVA-ACh

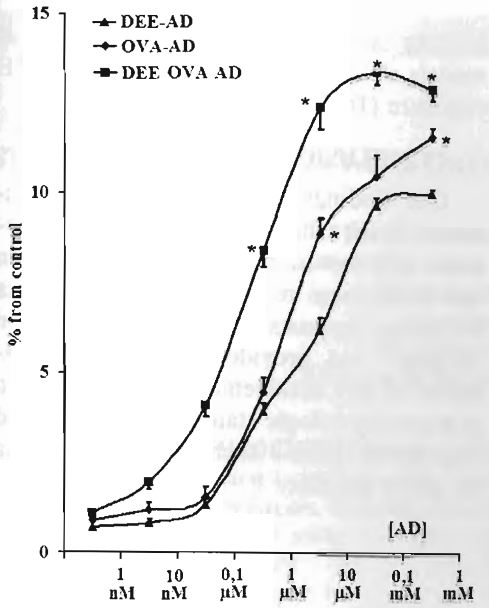


Fig. 3. Terbutaline (TB) induced relaxation of ACh pre-contracted bronchial rings of ovalbumine (OVA) sensitized and challenged rats in the absence (OVA-ACh-TB) or in the presence of diesel exhaust extract (DEE) and adenosine (AD). AD-DEE-OVA-ACh-TB: TB effects after challenge and in presence of DEE after pre-treatment with AD (0.1 μM). DEE-AD-OVA-ACh-TB: TB effects after challenge and in presence of AD (0.1 μM) after pre-treatment with DEE. DEE-OVA-ACh-TB: TB effects after challenge and in presence of DEE. *: $p<0.05$ as compared with OVA-ACh

In the presence of DEE the TB effects are lower (Emax = 60.70±2,65% as compared with 68.11±5.85%, $p>0.05$). After pre-treatment with AD (0.1 μM), the DEE effects become significant from 10 nM (12.15 ±2.11% as compared with 4.95±1.02%, $p<0.05$). Administration of AD after DEE did not have the same amplificatory results on DEE effects (fig. 2).

AD could initiate bronchoconstriction of sensitized and challenged rats (fig. 3). AD contractile effects are powerfully after challenge in presence of DEE from 1 μM (12.41±1.25 as compared with 6.23±1.42, $p<0,05$).

DISCUSSIONS

In recent decades, epidemiologic investigations have suggested a strong relationship between air pollution and an increase in the prevalence of allergic rhinitis and asthma (9). Taking into account that AD has been suggested to play a role in inflammatory airway diseases such as asthma and chronic obstructive pulmonary diseases we investigated interactions between AD and DEE on bronchial rings of OVA sensitised rats. It is known that adenosine can be released from mast cells in both early- and late-phase asthmatic responses via antigen/immunoglobulin E (IgE) interaction after allergen bronchoprovocation (10) and that inhaled AD causes bronchoconstriction in asthmatics but not in normal subjects (11). Anyway, the evidence to date suggests that it is not clear if AD induces bronchoconstriction only through mast cell degranulation and alternative mechanisms (e.g. the ability of AD to produce bronchoconstriction through direct effects on airway smooth muscle or through neuronal mechanisms) should not be disregarded (12).

It was demonstrated that pulmonary exposure to DE, if combined with allergen, enhances allergen-specific contractile response in the lung compared to that to allergen alone (13). The explanation was the activation of inflammatory cells by DE components. Our results showed that, on bronchi rings from OVA - sensitized rats, AD pre-treatment could significantly enhanced DEE effects: the increasing specific allergen induced contractions and the decreasing the bronchorelaxant effect of β-receptor agonist TB. As we know till now there are no published data about these AD related effects. We considered these AD effects as a result of AD direct effects on airway smooth muscle cells. Even if we could not totally exclude the involvement of neural mechanisms, we considered that 120 minutes for equilibration and washing significantly decreased the neuromediators amount of terminal buttons existent on bronchial rings walls. On the other hand, these effects are significantly only if the sequence is AD before DEE. These results agreed studies which demonstrated that AD can potentiate mast cell degranulation induced by other stimuli such as IgE (14).

As we demonstrated earlier, DEE could amplify bronchoconstrictor effects (15). DEE increased the AD contractile effects after the OVA challenge. These findings suggest that DEE enhanced allergen–induced bronchial hyperreactivity being in agreement with epidemiological data and results of toxicity studies in experimental animal models about the possible health risk of DE exposure (16).

CONCLUSIONS

Our findings indicate that AD can enhance diesel exhaust effects to increase airways hyperreactivity to specific allergen and to decrease relaxation induced by beta adrenergic agonists associated with allergen exposure and provides experimental evidence of AD involvement on deterioration of pathophysiologic state of allergen-related respiratory disease such as allergic asthma by diesel exhaust.

REFERENCES

1. Forsythe P, Ennis M. Adenosine, mast cells and asthma. *Inflamm Res* 1999 ; 48 (6) : 301-307.
2. Driver A, Kukoly C, Ali S, Mustafa S. Adenosine in bronchoalveolar lavage fluid in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993 ; 148 : 91-97.
3. Lloyd H, Ross L, Li K et al. Evidence that IgE receptor stimulation increases adenosine release from rat basophilic leukaemia (RBL-2H3) cells. *Pulm Pharmacol Ther* 1998 ; 11 (1) : 41-46.
4. Feoktiskov I, Biaggioni I. Role of adenosine in asthma. *Drug Dev Res* 1996 ; 39 : 333-336.
5. Livingston M, Heaney L, Ennis M. Adenosine, inflammation and asthma-a review. *Inflamm Res* 2004 ; 53 (5) : 171-178.
6. Behndig A, Is M, Brown J. Airway antioxidant and inflammatory responses to diesel exhaust exposure in healthy humans. *Eur Respir J* 2006 ; 27 (2) : 359-365.
7. Cavalher-Machao S, de Lima W, Damazo A et al. Down-regulation of mast cell activation and airway reactivity in diabetic rats : role of insulin. *Eur Respir J* 2004 ; 24 (4) : 552-558.
8. Madden N, Dailey M, Stonehuerner J et al. Responses of cultured human airway epithelial cells treated with diesel exhaust extracts will vary with the engine load. *J Toxicol Environ Health* 2003 ; 66 : 2281-2297.
9. Atkinson R, Anderson H, Sunyer J et al. Acute effects of particulate air pollution on respiratory admissions : results from APHEA 2 project. Air Pollution and Health : a European Approach. *Am J Respir Crit Care Med* 2001 ; 164 : 1860-1866.
10. Marquardt D, Gruber H, Wasserman S. Adenosine release from stimulated mast cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984 ; 81 : 6192-6196.
11. Ng W, Polosa R, Church M. Adenosine bronchoconstriction in asthma : investigations into its possible mechanism of action. *Br J Pharmacol* 1990 ; 30 (Suppl 1) : 89S-98S.
12. Brown R, Spina D, Page C. Adenosine receptors and asthma. *Br J Pharmacol* 2008 ; 153 (Suppl 1) : S446-456.
13. Inoue K, Koike E, Yanagisawa R et al. Impact of diesel exhaust particles on Th2 response in the lung in asthmatic mice. *J Clin Biochem Nutr* 2008 ; 43 (3) : 199-200.
14. Peachell P, Lichtenstein L, Schleimer R. Differential regulation of human basophil and lung mast cell function by adenosine. *J Pharmacol Exp Ther* 1991 ; 256 : 717-726.
15. Dumitriu I, Gurzu B, Plamadeala P et al. Effects of losartan on diesel exhaust's enhancement of antigen induced airway hyperresponsiveness. *Eur Respir J* 2008 ; 32 (Suppl 52) : 675S.
16. Kunzli N, Perez L, Lurmann F et al. An attributable risk model for exposures assumed to cause both chronic disease and its exacerbations. *Epidemiol* 2008 ; 19 (2) : 179-185.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi – 2009 – vol. 113, nr. 1

ŞTTINŢE FUNDAMENTALE

ARTICOLE ORIGINALE

STUDIUL DEFORMABILITĂŢII ERITROCITARE PRIN METODE OPTICE

Diana Lăcătuşu[1], V. Rusu[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Farmacie
1. Disciplina de Fizică
Facultatea de Medicină
2. Disciplina de Biofizică şi Fizică Medicală

STUDYING ERYTHROCYTE DEFORMATION BY OPTICAL METHODS (Abstract): Erythrocyte deformation is an important factor of the microcirculation in physiological and pathophysiological conditions. **Material and method** : Deformability was evaluated through the elongation index (IE) using two instruments based on optical methods : LORCA and RHEODYN – SSD. **Results** : The elongation index (IE) was compared for normal red blood cell (RBC) and heated RBC at 49°C for 9, 30, 60 minutes duration. Erythrocyte deformability was measured for RBC treated with diamide (two concentrations), too. The results show that the increase of the diamide concentration induces the increase of the rigidity and a decreased deformability through the decreased IE. The elongation index was found decreasing as long as the time of heating is bigger, the RBC becoming more rigid.

Key words : ERYTHROCYTE, DEFORMABILITY, TEMPERATURE, DIAMIDE

Deformabilitatea eritrocitară reprezintă capacitatea eritrocitelor de a suferi modificări ale formei ca urmare a aplicării unor forţe externe. Această proprietate a hematiilor le permite să traverseze vase capilare cu diametrul mai mic decât cel propriu având, de asemenea, drept rezultat o reducere a vâscozităţii sângelui total ce curge în interiorul vaselor mari.

Deformabilitatea eritrocitară constituie un element cheie în microcirculaţie. Aceasta poate fi studiată prin diverse metode : metode vâscozimetrice, metoda micropipetei, metode filtrometrice sau metode optice.

Am ales o metodă relevantă, metoda optică, prin care putem pune în evidenţă deformabilitatea eritrocitară atât în cazul hematiilor normale cât şi a hematiilor încălzite sau tratate cu diamidă.

MATERIAL ŞI METODĂ

La realizarea protocolului pentru studiul deformabilităţii eritrocitare au fost utilizate eşantioane de sânge pe un lot de 10-12 probe provenind de la subiecţi sănătoşi (bărbaţi şi femei, vârsta medie = 40 ± 12 ani) prelevate cu EDTA. Sângele a fost centrifugat timp de 10 minute la 1500 g la temperatura mediului ambiant iar hematocritul a fost ajustat la 40% cu plasmă autologă. Deformabilitatea globulelor roşii a fost măsurată comparativ cu două aparate : LORCA şi RHEODYN-SSD.

Măsurătorile au fost realizate în cadrul unui stagiu efectuat în Laboratorul de Mecanică şi Inginerie Celulară şi Tisulară, Departamentul de Hematologie a Facultăţii de Medicină a Universităţii „Henri Poincaré" Nancy, Franţa.

Aparatul LORCA (Laser- assisted Optical Rotational Cell Analyser) (1) este alcătuit dintr-un cilindru şi un tub transparent între care se introduce eşantionul de studiat. Un fascicul laser traversează suspensia de hematii. Aplicând diferite valori de forfecare (10 valori fixe cuprinse între 0,3 şi 53,65 Pa) se induce o alungire a hematiilor iar imaginile de difracţie sunt vizualizate pe un ecran de proiecţie. Pentru fiecare valoare a forţei de forfecare o cameră video înregistrează imaginea şi un program incorporat permite calcularea indicelui de elongaţie:

$$IE = \frac{A-B}{A+B} \qquad [1]$$

unde A şi B corespund celor două axe, verticală şi orizontală pentru imaginile de difracţie ale hematiilor. Pe măsura creşterii forfecării hematiile devin mai eliptice iar indicele de elongaţie creşte.

Pentru măsurarea deformabilităţii eritrocitare cu LORCA se folosesc 10 mL suspensie de globule roşii la hematocrit 40%, într-o soluţie de PBS (140 mM NaCl, 18,4 mM Na_2HPO_4 şi 1,3 mM NaH_2PO_4, ph 7,4) cu 55g/L PVP (polivinil-pirolidonă M 360000).

RHEODYN-SSD este un difractometru automat ce permite măsurarea deformabilităţii eritrocitare rapid, cu o mică cantitate de sânge (10-50 mL) (2,3). Globulele roşii sunt suspendate într-un mediu Dextran 40 de vâscozitate crescută şi plasate între un disc mobil şi unul fix. Forfecarea variază între 0,3 şi 60 Pa pentru a deforma hematiile. Acest aparat determină un indice de elongaţie definit prin:

$$IE = \frac{I_A - I_B}{I_A + I_B} \qquad [2]$$

unde I_A şi I_B corespund intensităţilor luminoase ditractate pe cele două axe perpendiculare A şi B. Un fascicul laser (He-Ne, 1mW) traversează suspensia sanguină iar intensitatea luminii transmise este măsurată în patru puncte. Pe măsură ce forfecarea creşte, creşte şi indicele de elongaţie eritrocitar.

În cazul studiului deformabilităţii eritrocitare pentru hematiile normale şi încălzite am măsurat indicele de elongaţie (IE) cu LORCA la temperatura de 37°C şi cu RHEODYN-SSD la (22±2)°C.

Pentru studiul deformabilităţii hematiilor tratate cu diamidă acestea au fost mai întîi spălate cu o soluţie fosfat izotonică (PBS) şi amestecate cu o soluţie de diamidă. Diamida (diazen dicarboxilic acid - $C_6H_{12}N_4O_2$) este utilizată în acest studiu pentru durificarea hematiilor. Ea este un agent chimic ce permite schimbarea caracteristicilor membranei globulelor roşii prin polimerizarea proteinelor citoscheletice ale membranei. În studiul de faţă au fost utilizate concentraţii de 0,1 mM şi 0,2 mM de diamidă.

TABELUL I

Valorile indicilor de elongaţie obţinute cu LORCA şi RHEODYN-SSD

IE (LORCA)		IE (RHEODYN-SSD)	
Stresul de forfecare τ (Pa)	**Valoarea medie ± σ n = 10**	**Stresul de forfecare (Pa)**	**Valoarea medie ± σ n = 10**
0,3	0,079±0.07	0,3	0,064±0,04
0,5	0,069±0,02	0,6	0,116±0,04
1,0	0,129±0,03	1,2	0,219±0,05
1,7	0,227±0,03	3,0	0,367±0,05
3,0	0,332±0,03	6,0	0,478±0,05
5,3	0,416±0,04	12	0,565±0,05
9,5	0,487±0,03	30	0,649±0,06
17	0,542±0,02	60	0,687±0,07
30	0,577±0,02		
53	0,601±0,07		

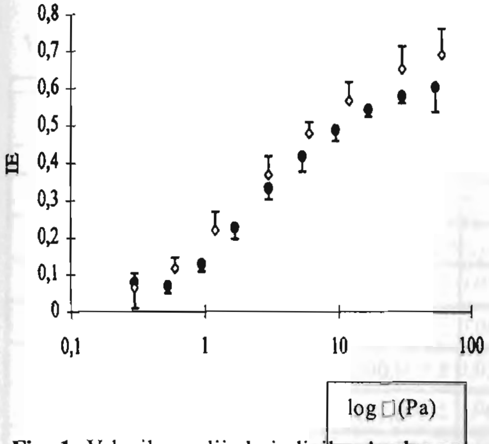


Fig. 1. Valorile medii ale indicilor de elongaţie în funcţie de forfecare obţinuţi cu LORCA (•) şi RHEODYN (◊)

REZULTATE

Deformabilitatea hematiilor normale

Deformabilitatea globulelor roşii a fost evaluată prin intermediul indicelui de elongaţie (IE) comparativ cu LORCA şi RHEODYN-SSD. Se constată că cele două aparate dau rezultate comparabile, valorile obţinute cu LORCA fiind inferioare celor obţinute cu RHEODYN-SSD (tab. I) dar proporţionale.

Există trei valori identice ale stresului de forfecare în cazul celor două aparate: 0,3 Pa; 3Pa şi 30 Pa astfel încât este posibilă comparaţia valorilor indicilor de elongaţie determinaţi pentru aceeaşi valoare a forfecării evidenţiindu-se corelaţii pozitive.

S-a trasat graficul ce exprimă valorile indicilor de elongaţie funcţie de stresul de forfecare obţinute cu cele două aparate (fig. 1).

Deformabilitatea hematiilor încălzite

Valorile indicilor de elongaţie obţinute cu LORCA respectiv RHEODYN-SSD au fost măsurate pentru hematii încălzite la temperatura de 49°C timp de 9, 30, 60 minute.

Cu cât timpul de încălzire este mai mare cu atât globulele roşii se durifică mai tare, valorile idicilor de elongaţie IE fiind mai scăzute (tab. II şi tab. III).

Deformabilitatea hematiilor încălzite exprimată prin indicii de elongaţie se diminuează semnificativ faţă de valorile indicilor de elongaţie pentru hematiile normale (tab. I).

TABELUL II

Valorile indicilor de elongaţie obţinute cu LORCA

Stresul de forfecare τ (Pa)	IE (n = 10) GR încălzite (9 min.)	IE (n = 10) GR încălzite (30 min.)	IE (n = 10) GR încălzite (60 min.)
0,3	0,048 ± 0,06	0,071 ± 0,1	0,021 ± 0,04
0,5	0,037 ± 0,04	0,072 ± 0,07	0,025 ± 0,04
1,0	0,035 ± 0,05	0,024 ± 0,05	0,036 ± 0,04
1,7	0,058 ± 0,07	0,028 ± 0,08	0,059 ± 0,05
3,0	0,108 ± 0,08	0,076 ± 0,07	0,085 ± 0,05
5,3	0,166 ± 0,07	0,121 ± 0,07	0,107 ± 0,06
9,5	0,224 ± 0,07	0,169 ± 0.07	0,144 ± 0,05
17	0,279 ± 0,07	0,214 ± 0,07	0,176 ± 0,06
30	0,336 ± 0,07	0,257 ± 0,06	0,207 ± 0,06
53	0,388 ± 0,07	0303 ± 0,06	0,248 ± 0,06

TABELUL III

Valorile indicilor de elongaţie obţinute cu RHEODYN-SSD

Stresul de forfecare τ (Pa)	IE (n = 12) GR încălzite (9 min.)	IE (n = 12) GR încălzite (30 min.)	IE (n = 12) GR încălzite (60 min.)
0,3	0,024 ± 0,03	0,029 ± 0,04	0,041 ± 0,02
0,6	0,038 ± 0,03	0,035 ± 0,03	0,037 ± 0,02
1,2	0,044 ± 0,02	0,056 ± 0,05	0,050 ± 0,03
3,0	0,86 ± 0,03	0,065 ± 0,03	0,049 ± 0,02
6,0	0,143 ± 0,05	0,096 ± 0,03	0,067 ± 0,03
12	0,208 ± 0,07	0,159 ± 0,05	0,086 ± 0,02
30	0,301 ± 0,10	0,232 ± 0,06	0,127 ± 0,03
60	0,374 ± 0,11	0,303 ± 0,08	0,170 ± 0,04

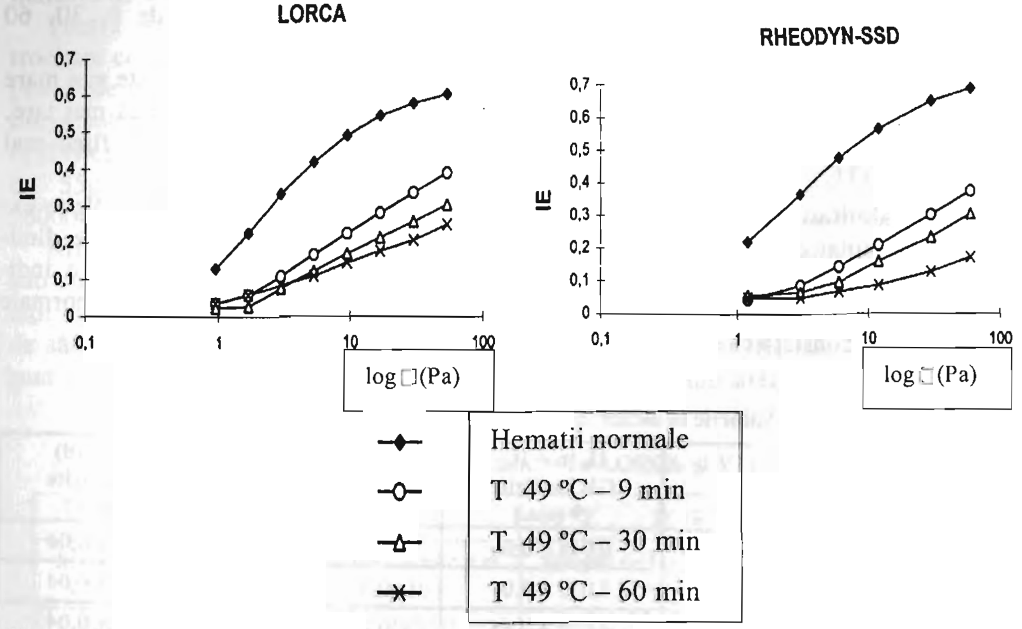


Fig. 2. Valorile medii ale indicilor de elongaţie obţinuţi cu LORCA şi RHEODYN-SSD în funcţie de stresul de forfecare aplicat pentru hematii normale şi hematii încălzite la 49°C timp de 9, 30, 60 minute

Curbele (fig. 2.) exprimă dependenţa indicilor de elongaţie în funcţie de forfecare pentru hematii normale şi încălzite timp de 9, 30 şi 60 de minute. Pentru hematiile încălzite timp de o oră s-a observat o diferenţă semnificativă în cazul măsurătorilor efectuate cu cele două aparate. Au fost puse în evidenţă corelaţii pozitive între valorile indicilor de elongaţie cu LORCA şi RHEODYN-SSD pentru hematii încălzite la τ = 3,0 Pa pentru indicii de elongaţie la hematii încălzite la 49°C timp de 9 minute şi 30 minute.

Deformabilitatea hematiilor tratate cu diamidă

Hematiile normale au fost tratate cu Diamidă (0,1 mM şi 0,2 mM, Volum sânge / Volum diamidă = 1 : 10) la temperatura de 37°C timp de o oră.

TABELUL IV

Valorile indicilor de elongaţie obţinute cu LORCA şi RHEODYN-SSD pentru hematii tratate cu Diamidă

LORCA			RHEODYN-SSD		
Stresul de forfecare τ (Pa)	IE (n = 10) GR în Diamidă (0,1mM)	IE (n = 10) GR în Diamidă (0,2mM.)	Stresul de forfecare τ (Pa)	IE (n = 10) GR în Diamidă (0,1mM)	IE (n = 10) GR în Diamidă (0,2mM)
0,3	0,057 ± 0,08	0,112 ± 0,07	0,3	0,028 ± 0,02	0,015 ± 0,01
0,5	0,046 ± 0,06	0,116 ± 0,06	0,6	0,045 ± 0,02	0,031 ± 0,02
1,0	0,056 ± 0,08	0,040 ± 0,03	1,2	0,091 ± 0,04	0,059 ± 0,03
1,7	0,103 ± 0,08	0,058 ± 0,06	3,0	0,184 ± 0,09	0,108 ± 0,06
3,0	0,174 ± 0,11	0,105 ± 0,09	6,0	0,296 ± 0,11	0,186 ± 0,08
5,3	0,260 ± 0,12	0,182 ± 0,10	12	0,398 ± 0,11	0,284 ± 0,10
9,5	0,345 ± 0,12	0,259 ± 0,10	30	0,510 ± 0,09	0,432 ± 0.08
17	0,404 ± 0,12	0,333 ± 0,10	60	0,587 ± 0,07	0,528 ± 0,06
30	0,463 ± 0,12	0,422 ± 0,09			
53	0,502 ± 0,13	0,476 ± 0,08			

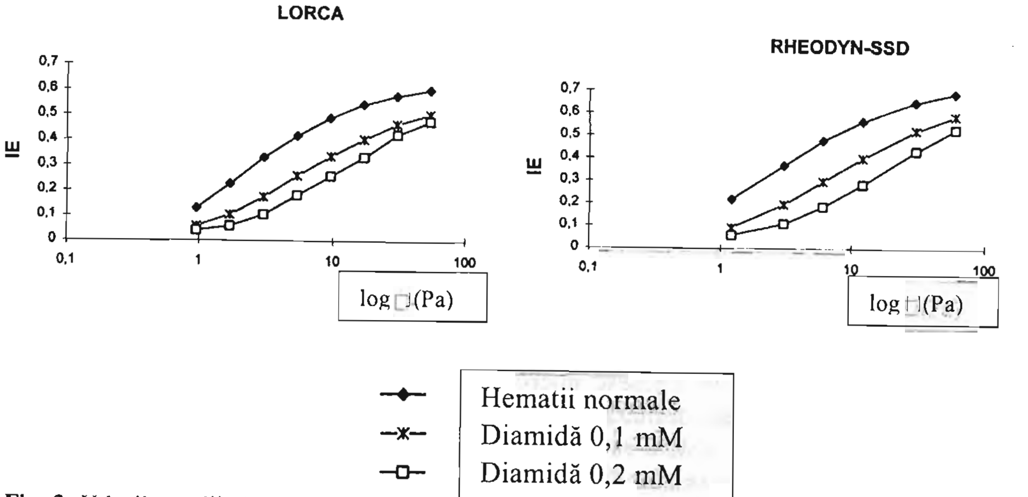


Fig. 3. Valorile medii ale indicilor de elongaţie obţinuţi cu LORCA şi RHEODYN-SSD funcţie de stresul de forfecare aplicat pentru hematii normale şi hematii tratate cu Diamidă pentru două concentraţii diferite

S-a constatat că odată cu creşterea concentraţiei de diamidă indicele de elongaţie scade, hematiile se rigidizează mai mult.

Au fost comparate aceste noi valori ale indicelui de elongaţie (tab. IV) cu valorile obţinute pentru hematii normale (tab. I) constatând că indicii de elongaţie pentru hematiile tratate cu diamidă au valori mai scăzute decât în cazul hematiilor normale pentru diferite valori ale stresului de forfecare.

Am găsit corelaţii pozitive între valorile indicilor de elongaţie cu LORCA şi RHEODYN-SSD pentru hematiile tratate cu diamidă la un stres de forfecare $\tau = 3{,}0$ Pa.

DISCUŢII

Deformabilitatea hematiei este expresia proprietăţilor microreologice ale acesteia, aceasta rezultând din asocierea la proprietăţile vâscoelastice ale membranei şi proprietăţile hemoglobinei (3,4,5). Gradul de deformare eritrocitară depinde atât de forţele care acţionează asupra celulei în circulaţia sanguină, cât şi de proprietăţile sale intrinseci (6,7).

Deformabilitatea eritrocitelor poate fi studiată prin diverse metode *in vitro*. Vâscozimetria, metoda micropipetei, metodele şi instrumentele filtrometrice pentru măsurarea deformabilităţii eritrocitelor sunt sensibile într-o anumită măsură la forma globulelor roşii, vâscozitatea internă şi elasticitatea membranei globulelor roşii (8,9).

Eritrocitele sunt deformabile în sensul că ele prezintă diferenţieri faţă de structurile rigide echivalente, fie sub formă de celule individuale, fie în suspensii. Modul în care apar diferenţierile depinde de tipul de deformaţie produs de condiţiile de testare. Cele mai clar definite deformări sunt produse de metodele care folosesc micropipetele. Geometria bine definită şi condiţiile de limită fac ca testele să poată fi analizate matematic, ceea ce permite o comparare cantitativă a mecanicii membranei celulare. Neajunsul rezultă din complexitatea acestor metode care le face prea dificile şi consumatoare de timp pentru aplicaţiile clinice obişnuite.

Dificultatea de comparare apare şi în cazul rezultatelor obţinute prin metode ce folosesc aceeaşi tehnică. Când se utilizează metoda microfiltrării, este necesar să se folosească un singur lot de membrane de filtrare, pentru a asigura dimensiuni şi densităţi ale porilor comparabile.

Pentru studiul deformabilităţii eritrocitare au fost propuse şi metode optice (10,11) care permit o evaluare cantitativă. Principalele tehnici sunt reoscopul şi ektacitometrul. Metoda reoscopului a fost iniţial propusă de Schimid-Schönbein iar Bessis şi Mohandas au propus o tehnică bazată pe difracţia luminii (ektacitometrul) care constă în observarea deformabilităţii globulelor roşii în suspensia supusă la o forţă de forfecare. Un fascicul laser traversează perpendicular suspensia, producând o imagine de difracţie pe un ecran. Aceasta este circulară atunci când forfecarea este nulă şi devine alungită când viteza de rotaţie creşte. Pornind de la aceasta metodă, au fost propuse îmbunătăţiri şi astfel două noi dispozitive au fost puse la punct: LORCA şi RHEODYN-SSD care se bazează de asemenea pe analiza difracţiei laser, metode utilizate în acest studiu.

Deformabilitatea hematiilor normale a fost evaluată în studiul nostru prin intermediul indicelui de elongaţie (IE) comparativ cu cele două aparate: LORCA şi RHEODYN-SSD. Există trei valori identice ale stresului de forfecare în cazul celor două aparate: 0,3 Pa; 3Pa şi 30 Pa fiind posibilă comparaţia valorilor indicilor de elongaţie determinaţi pentru aceeaşi valoare a forfecării. Datele obţinute au fost în mod evident mai productibile decât cele obţinute cu metodele anterioare.

Studiul deformabilităţii este de interes atât în cercetarea fundamentală cât şi în patologia eritrocitului.

CONCLUZII

Rezultatele acestui studiu confirmă faptul că deformabilitatea eritocitară este influenţată de stresul de forfecare şi de temperatură.

Proprietăţile reologice ale membranei globulei roşii se pot modifica prin tratament cu produse chimice (diamida) sau prin încălzire. Hematiile pot fi astfel rigidifizate.

Măsurătorile obţinute asupra hematiilor încălzite evidenţiază următorul aspect: cu cât timpul de încălzire este mai mare cu atât globulele roşii se durifică mai tare, valorile indicilor de elongaţie IE fiind mai scăzute.

Cercetările noastre asupra hematiilor tratate cu diamidă confirmă că o creştere a concentraţiei de diamidă determină o rigiditate crescută a hematiilor şi o deformabilitate redusă exprimată prin scăderea indicelui de elongaţie.

Capacitatea de deformare a hematiilor se modifică într-un număr foarte mare de boli astfel încât măsurarea deformabilităţii poate fi utilă în clinică. Pe de altă parte, este posibilă modificarea deformabilităţii prin intermediul unor medicamente.

BIBLIOGRAFIE

1. Hardeman M., Goedhart PT. Laser-assisted optical rotational cell analyser (LORCA); a new instrument for measurement of various structural hemorheological parameters. *Biorheol* 1995 ; 32 : 121.
2. Bull BS, Chien S, Dormandy JA et al. Guidelines for measurement of blood viscosity and erytrocyte defoamability. *Clin Hemorheol* 1986 ; 6 : 439-453.
3. Pries AR, Secomb TW. Rheology of the microcirculation. *Clin Hemorheol Microcirc* 2003 ; 29 (3-4) : 143-148.
4. Chien S, Sung LA. Molecular basis of red cell membrane rheology. *Biorheol* 1990 ; 27 : 327-344.
5. Rusu V, Lăcătuşu D, Răileanu I. Forma eritrocitului - o analiză biofizică, *Rev Med Chir Soc Med Nat* 2007 ; 1 : 194-199.
6. Baskurt OK, Meiselman HJ. Blood rheology and hemodynamics. *Semin Thromb Hemost* 2003 ; 29 (5) : 435-500.
7. Stoltz JF. Clinical hemorheology : past, present and perspectives. *Clin Hemorheol* 1996, 16 : 87-104.
8. Chien S. Comparison of filtration, micropipette and viscometry in osmotically swollen red cells. In : Dormandy J editor. *Blood Filtration and Blood Cell Deformability.* Dordrecht : Martinus Nijhoff Publishers, 1985 ; 61-62.
9. Persson S. *Erythrocyte Deformability Studied by Viscometry and Filtrometry*. Lund University, Sweden, 1994.
10. Baskurt OK, Meiselman HJ. Determination of red blood cell shape recovery time constant in a couette system by the analysis of light reflectance and ektacytometry, *Biorheol* 1996 ; 33 : 489-503.
11. Dobbe JG, Streekstra GJ, Hardeman MR et al. Measurement of the distribution of red blood cell deformability using an automated rheoscope. *Cytometry* 2002 ; 50 (6) : 313-325.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICNĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR ARTICOLE ORIGINALE

PARTICULARITĂŢI CLINICE ŞI MICROBIOLOGICE ALE INFECŢIILOR CU *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ÎN SPITALUL DE BOLI INFECŢIOASE IAŞI

Simona Magdalena Petrache[1], Egidia Miftode[1], Daniela Leca[1], Olivia Dorneanu[2], V. Luca[3]
Universitatea de Medicina şi Farmacie „Gr.T. Popa” Iaşi
Facultatea de Medicina
1. Disciplina de Boli Infecţioase
2. Disciplina de Microbiologie
3. Spitalul Clinic de Boli Infecţioase „Sf. Parascheva” Iaşi

CLINICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* INFECTIONS IN INFECTIOUS DISEASES HOSPITAL IAŞI (Abstract). We assessed clinical and microbiological characteristics of *Staphylococcus aureus* (SA) infections in hospitalized patients during a period of three years (October 2005 - October 2008) in the Clinic Hospital of Infectious Diseases Iaşi. **Material and methods**: The study included 169 patients with SA infections (sepsis, meningitis, skin infections and urinary tract infections). MiniAPI system ID 32 STAPH was used for identification and antibiotic susceptibility was assessed by ATB STAPH method and by E-test for oxacillin and vancomycin. **Results**: The rate of methicillin resistance (MR) was 48%, all strains being susceptible to linezolid, vancomycin, teicoplanin.In our study MRSA was susceptible in approximately 94% of cases to clindamycin and cotrimoxazole. Infections were defined as nosocomial in 51% of patients with a rate of MR of 52% and community-acquired in 49% with a rate of MR of 23% (p=0.001). Clinical profile was: localized infection in 41% of patients with MRSA and systemic infection (sepsis with at least one organ involvement or bacteremia) in 59% of pacients with MRSA infections (p=0.53). Initial treatment was inadequate in 46% of MRSA infections. One third of strains had MIC of vancomycin 2 mg/mL. **Conclusions**: The high level of methicillin resistance of *S. aureus* straints isolated from infections (48 %) justifies a particular approach of initial antistaphylococcal theraphy. **Key words**: *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, ANTIMICROBIALS, SUSCEPTIBILITY

Stafilococii rămîn agenţi patogeni extrem de virulenţi, la originea unei morbidităţi importante şi foarte variate, implicaţi atât în infecţii comunitare, cât mai ales, nosocomiale.

Problema cu care se confruntă clinicienii în ultimele 2 decade este cea a rezistenţei la meticilină a *Staphylococcus aureus (S. aureus)* şi a stafilocilor coagulazo-negativi, rezistenţă care se extinde, nu numai la betalactamine, ci şi la multe alte antibiotice. Aceste tulpini sunt responsabile de infecţii severe, frecvent letale, mai ales în serviciile de terapie intensivă, chirurgie, hematologie, unităţile pentru arşi etc.

Cunoaşterea epidemiologiei tulpinilor de *S. aureus* meticilino-rezistente (MRSA) stă la baza strategiilor de prevenire a diseminării acestora şi în acest scop s-au dezvoltat diverse tehnici de tipare moleculară.

MATERIAL ŞI METODĂ

Am studiat profilele de rezistenţă a 302 tulpini de *S. aureus* izolate din diferite produse patologice de la pacienţii diagnosticaţi cu infecţii stafilococice şi internaţi in Spitalul Clinic de Boli Infecţioase Iaşi în perioada 2006 - 2008.

Din totalul tulpinilor de *S. aureus* am analizat datele clinice ale 169 pacienţi cu astfel de infecţii, la restul nefiind disponibile aceste informaţii deoarece au reprezentat consulturi ambulatorii sau tulpini trimise de la alte servicii medicale.

Diagnosticul microbiologic a constat din examen microscopic al frotiului colorat Gram, cultură pe agar-sânge, identificare prin testul catalazei şi testul coagulazei, identificare automată în sistem miniAPI pe galerii ID32 STAPH (bioMerieux, Franţa).

Testarea sensibilităţii la antibiotice a tulpinilor izolate s-a efectuat folosind galeriile ATB STAPH (bioMerieux, Franţa), pe baza antibiogramei difuzimetrice prin determinarea CMI a oxacilinii faţă de tulpinile studiate şi *S. aureus* ATCC 25923 prin metoda diluţiilor în agar Mueller Hinton, CMI a oxacilinei şi vancomicinei prin metoda E-test.

Stocarea şi prelucrarea datelor s-a realizat cu ajutorul programului EPIINFO 2005. Pentru comparaţii s-a utilizat testul chi pătrat, fiind considerate semnificative valorile lui p= 0,05. Riscul relativ estimat Odds Ratio (OR) a fost calculat cu ajutorul intervalului de încredere IC95.

REZULTATE

Vârsta medie a fost de 45,43 ani, cu o abatere standard de 22,55, un minim de 16 ani şi un maxim de 91 ani. La 63 de pacienţi s-a izolat *S. aureus* meticilino-rezistent (MRSA), aceştia având vârsta medie de 46,42 ani, iar la 106 pacienţi s-a decelat *S. aureus* meticilino-sensibil (MSSA), vârsta medie fiind în acest caz de 44,40 ani.

În lotul studiat proporţia infecţiilor nosocomiale a fost similară cu cea a infecţiilor comunitare (49,1% vs 50,9%).

Am constatat existenţa unei dependenţe direct proporţionale între tulpinile rezistente la oxacilină (MRSA) şi infecţiile nosocomiale precum şi între cele MSSA şi infecţiile comunitare - p=0,00123; Odds ratio = 3.55 (1.75 <OR< 7.26).

Mai mult de o treime dintre pacienţi au primit tratamente prealabile cu antibiotice (36,7%), dar nu am constatat o diferenţă semnificativă între proporţia celor trataţi în prealabil cu antibiotice şi faptul că au dezvoltat o infecţie cu MRSA sau MSSA - p= 0,3405; Odds ratio = 0.73 (0.37 <OR < 1.46).

Diferite tipuri de comorbidităţi au fost înregistrate la 66.8% dintre pacienţi fără însă să existe o diferenţă semnificativă între prezenţa sau absenţa bolilor subjacente şi tipul de tulpină infectantă (MRSA sau MSSA)- p= 0,9665; Odds ratio = 1.01 (0.50 <OR < 2.07).

Infecţia a fost sistemică (localizări multiple sau dovedită doar prin hemoculturi pozitive) în 55,6% din cazuri şi localizată (infecţii urinare, infecţii de părţi moi, etc) în 44,3% din cazuri.

Diagnosticul de sepsis a fost stabilit pe baza criteriilor Bone. Nu am constatat diferenţe semnificative statistic privind tipul de infecţie (localizată/sistemică) şi rezistenţa la meticilină a tulpinii infectante (MRSA/MSSA) - p= 0,5305; Odds ratio = 0,82 (0,41 <OR< 1,61).

În general tratamentul de primo intenţie a fost adecvat (nu a necesitat remaniere după obţinerea rezultatului antibiogramei) la 61,5% din pacienţi. Deşi tratamentul de primo intenţie a fost adecvat la un procent mai mare din cazurile cu MSSA (66%) comparativ cu cele infectate cu MRSA (54%) diferenţa nu a fost semnificativă statistic între aceste categorii clinice - p= 0,1189; Odds ratio = 1,66 (0,83 <OR< 3,30) (tab. I).

Rata de rezistenţă la oxacilină a *S. aureus* din diferite produse patologice a fost de 48 %, avînd variaţii uşoare în cei trei ani luaţi în studiu. Toate tulpinile de *S. aureus* au fost sensibile la vancomicină, teicoplanin,

TABELUL I

Particularităţi clinice ale infecţiilor cu MRSA vs. MSSA

Date clinice	MRSA (n = 63)		MSSA (n=106)		p
	Nr.	%	Nr.	%	
Infecţie - nosocomială - comunitară	43 20	68,3 31,7	40 66	23,6 76,4	0,00123
-tratat în prealabil cu AB -netratat anterior	26 37	41,3 58,7	36 70	33,9 66,1	0,3405
-fără comorbidităţi -cu comorbidităţi	21 42	33,3 66,7	35 71	33 67	0,9665
Infecţie - localizată - sistemică	26 37	41,3 58,7	49 57	46,2 53,8	0,5305
Tratament iniţial - adecvat - inadecvat	34 29	53,9 46,1	70 36	66 34	0,1189

TABELUL II

Profilul de rezistenţă al *S. aureus* (302 tulpini)

Antibiotic	S (n)	R (n)	R%
Penicilină	36	266	88,1
Oxacilină	158	144	47,7
Cotrimoxazol	286	16	5,3
Gentamicină	112	190	62,9
Eritromicină	151	151	50,0
Clindamicină	293	18	6,0
Tetraciclină	145	157	52,0
Minociclină	251	51	16,9
Rifampicină	230	72	23,8
Norfloxacin	217	85	28,1
Levofloxacină	237	65	21,5
Acid fusidic	282	20	6,6
Vancomicină	302	0	0,0
Teicoplanin	302	0	0,0
Linezolid	302	0	0,0
Quinupristin/ Dalfopristin	302	0	0,0
Nitrofurantoin	302	0	0,0

TABELUL III

Profilul de sensibilitate al *S. aureus* meticilino-rezistent (n=144)

Antibiotic	S (n)	%
Cotrimoxazol	131	91,1
Gentamicină	25	17,2
Eritromicină	29	20,3
Clindamicină	139	96,6
Tetraciclină	35	24,1
Minociclină	100	69,3
Rifampicină	71	49,1
Norfloxacin	77	53,6
Levofloxacină	87	60,4
Acid fusidic	132	91,8
Vancomicină	144	100,0
Teicoplanin	144	100,0
Linezolid	144	100,0
Quinopristin/Dalfopristin	144	100,0
Nitrofurantoin	144	100,0

quinupristin/dalfopristin, linezolid.

Cel mai mic nivel de rezistenţă al *S. aureus* după cele mai sus menţionate a fost decelat în cazul cotrimoxazol (5,3%) urmat de clindamicină (6%) şi de acid fusidic (6,6% sensibilitate intermediară) (tab. II).

Analizând profilul de sensibilitate al celor 144 de tulpini de S. aureus meticilino-rezistente am constatat că următoarele antibiotice îşi conservă o bună activitate asupra acestor tulpini: cotrimoxazol (91,1%), clindamicină (96,6%), acid fusidic (91,8%), minociclină (69,3%).

Fenomenul de heterorezistenţă la oxacilină a fost remarcat la 24% din tulpinile de *S. aureus* (tab. III).

Determinarea concentraţiei minime inhibitorii (CMI) a oxacilinei faţă de tulpinile studiate (140 determinări) şi *S. aureus* ATCC 25923 prin metoda E-test pe agar Mueller Hinton a relevat faptul că CMI-ul oxacilinei faţă de *S. aureus* a avut valori foarte mari, >256 mg/L în 27% din cazuri, iar la 58%

CMI-urile au fost >2 mg/L.

CMI-urile vancomicinei pentru *S. aureus* au fost: 0,5 mg/L la 3 tulpini (5%), 1 mg/L la 15 tulpini (24 %), 1,5 mg/L la 24 de tulpini (39%) şi 2 mg/L la 20 de tulpini (32%).

DISCUŢII

Meticilino-rezistenţa, asociată până nu demult cu infecţiile nosocomiale, poate surveni *de novo* la tulpinile comunitare de *S. aureus* (CA-MRSA) prin achiziţionarea orizontală a genelor *mec A*. CA-MRSA se caracterizează prin: prezenţa exotoxinei PVL (leucocidina Panton-Valentine), absenţa fenotipului de multirezistenţă la antibiotice, tipul IV SCCmec, diferenţiere moleculară, genotipică şi fenotipică faţă de tulpinile nosocomiale, pattern de sensibilitate antimicrobiană variabil de la o regiune la alta.

Pentru perioada 1999-2006 EARSS raportează creşteri semnificative ale ratei MRSA (>40%) în Portugalia, Spania şi Malta şi o stabilizare a ratei MRSA în UK (pare să aibă loc un declin în 2006) şi în Germania (1).

Există o creştere continuă a MRSA în spitale, unităţi de îngrijiri de lungă durată, comunităţi strânse, homosexuali, precum şi constituirea unor noi rezervoare, respectiv animalele de casă. Din perspectivă moleculară, există o dinamică specifică a clonelor şi impunerea unor clone specifice, cel mai pregnant trend fiind cel legat de implicarea clonelor comunitare - ST 1 MRSA-IV, ST 80 MRSA-IV, ST 30 MRSA-IV - în izbucniri nosocomiale, trend cel mai bine exprimat în Statele Unite, cu impunerea USA300 şi difuziunea sa transoceanică (2,3). În lotul nostru rezistenţa la meticilină a fost 52% la cei cu infecţii nosocomiale şi de 23% în cazul celor cu infecţii comunitare, cu o rată a tratamentului inadecvat de 46% la cei cu infecţii nosocomiale.

O meta-analiză recentă demonstrează că subiecţii care au fost expuşi la terapia cu antibiotice au un risc de 2 ori mai mare de a achiziţiona o tulpină de MRSA comparativ cu subiecţii neexpuşi. Acest risc este de 3 ori mai mare în cazul în care s-au utilizat quinolonele sau glicopeptidele (4).

Un alt fenomen emergent este cel al tulpinilor de *S. aureus* cu rezistenţă joasă la AB (LLRSA) situaţie în care "microorganismul are CMI mai mare decât cea comună pentru populaţia sensibilă, dar este lipsit de orice mecanism de rezistenţă dobândită".

EUCAST defineşte rezistenţa de nivel scăzut ca fiind cea care începe de la limita superioară a valorii de cut-off. Este deci afectată relaţia dintre bacterie şi agentul antimicrobian până la un nivel la care succesul clinic nu mai este garantat.

Implicaţiile clinice ale fenomenului au importanţă deosebită în cazul infecţiilor sistemice de tipul vegetaţiilor endocardice sau a abceselor profunde, unde penetrarea antibioticelor este insuficientă în ciuda unor scheme terapeutice adecvate şi în cazul antibioticelor cu activitate de tip "borderline" pe *S. aureus* (acid fusidic, vancomicină, linezolid) (5).

Prima tulpină heterogenă-VISA (SA cu sensibilitate intermediară la glicopeptide) a fost identificată de un grup japonez în 1997, acesta fiind precursor al VISA, cu sensibilitate redusă la vancomicină. hVISA conţine subpopulaţii de *S. aureus* cu CMI-uri cu valori intermediare, rezultând un CMI "combinat" ce se situează între cel al MRSA de tip sălbatic (=2mg/L sau sensibil) şi VISA (8-16 mg/L) (6,7).

Tulpinile heterorezistente pot fi responsabile de eşecul terapeutic, acestea posedând anumite caracteristici (de structură, morfologie, caracteristici ale creşterii şi expresie a genelor) ce pot avea un rol major în virulenţă.

Aşa cum se poate remarca şi din studiul nostru profilul de rezistenţă a tulpinilor de *S. aureus* s-a modificat mult în ultimii ani, datorită cel mai probabil utilizării în mod neadecvat a antibioticoterapiei. O serie de medicamente par a fi compromise ca alternativă terapeutică (cefalosporine, aminoglicozide, macrolide). De aici derivă necesitatea monitorizării permanente a rezistenţei la antibiotice a tulpinilor MSSA vs. MRSA în vederea elaborării unor recomandări terapeutice adaptate situaţiei locale.

CONCLUZII

În lotul studiat tulpinile rezistente la oxacilină (MRSA) au provenit mai ales din infecţii nosocomiale, dar 23% din infecţiile comunitare au fost determinate de MRSA fapt ce impune realizarea unei anamneze atente pentru decelarea factorilor de risc pentru meticilino-rezistenţă.

Nivelul rezistenţei la oxacilină a *S. aureus* s-a menţinut relativ constant pe parcursul celor trei ani cu o uşoară tendinţă la creştere în 2008 (51%).

Am remarcat o creştere a procentului de rezistenţă la clindamicină în 2008 (12%), fapt datorat, probabil, unei utilizări mai frecvente în ultimii ani.

La peste 30% din cazuri CMI-urile vancomicinei pentru *S. aureus* au fost crescute (2 mg/L), aceste constatări reprezentând un semnal de alarmă privind emergenţa unor tulpini de *S. aureus* cu sensibilitate diminuată la vancomicină.

BIBLIOGRAFIE

1. *** EARSS Annual Report 2006. Available at ttp : //www.rivm.nl/earss/, April 2008.
2. Huang YH, Tseng SP, Hu JM, Tsai JC, Hsueh PR, Teng LJ. Clonal spread of SCC*mec* type IV methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between community and hospital. *Clin Microbiol Infect* 2007 ; 13 : 717-724.
3. O'Hara FP, Guex N, Word JM et al. A geographic variant of the *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin toxin and the origin of community-associated methicillin-resistant *S. aureus* USA300. *J Infect Dis* 2008 ; 197 (2) : 187-194.
4. Tacconelli E, De Angelis G, Cataldo MA, Pozzi E. Does antibiotic exposure increase the risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolation ? A systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2008 ; 61 (1) : 26-38.
5. Falagas ME, Macris GC, Dimapoulos G, Matthaiou DK. Heteroresistance : a concern of increasing clinical significance ? *Clin Microbiol Infect* 2008 ; 14 : 101-104.
6. Jones RN. Key considerations in the treatment of complicated staphylococcal infections. *Clin Microbiol Infect* 2008 ; 14 (s2) : 3-9.
7. Tenover FC, Moellering RC Jr. The rational for revising the clinical and laboratory standards vancomycin minimal inhibitory concentration interpretive criteria for *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2007 ; 44 : 1208-1215.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR **ARTICOLE ORIGINALE**

OBEZITATEA ŞI RELAŢIILE DE GRUP LA ADOLESCENŢI

Aurelia Cordeanu[1], Elena-Mihaela Cordeanu[1], D.Al. Diaconescu[2]
Universitatea de Medicina şi Farmacie "C. Davila" Bucureşti
Facultatea de Medicină
1 Disciplina de Igienă
Intitutul de Sănătate Publică Bucureşti
2 Compartimentul de Igiena a copiilor şi tinerilor

OBESITY AND GROUP RELATIONS AT TEENAGERS (Abstract) : Obesity represents one of the most important issues for modern society and for children and teenagers in particular. Obesity, beyond its many clinical implications, is responsible for serious disturbances in the process of socialization at teenagers. **Material and method** : In this study we have analyzed a group of 342 teenagers from a high school (56% girls and 44% boys) which were questioned about : the types of aggression, relation between obesity and their relations with opposite sex and their scholar proficiency. **Results** : After analyzing the results we've found that teens are victims of the entourage, they have less opportunity to be involved in relations with the opposite sex, and they are experiencing serious psychological problems related to their obesity. Obesity during teenager period may lead to a total negativism reflected in scholar abandonment, difficulties in finding a partner and social rejection. **Key words** : OBESITY, SOCIAL GROUP RELATIONS TEENAGERS

Obezitatea reprezintă o problemă de sănătate pentru individ şi colectivitate pe termen scurt şi termen lung. Obezitatea este o tulburare cronică de nutriţie cu o incidenţă crescânda în ultimii ani. Cauza principala este discrepanţa dintre aportul caloric şi cheltuielile de energie – elementul predominant reprezentându-l *excesul caloric prelungit al dietei pe fondul unei perturbări a mecanismelor fiziologice de reglare a aportului alimentar*, condiţionată de : practici nutriţionale deficitare ; mediu familial inadecvat, mediu psihologic negativ.

În general, starea de sănătate este aparent bună dar, dacă există probleme simptomatologia se încadrează în una din următoarele categorii :

- *problemele psihologice* (constituie o categorie importantă de tulburări la copilul şi adolescentul obez ; sunt secundare obezităţii şi atitudinii obişnuite a populaţiei de aceeaşi vârsta faţă de copilul obez, ca şi prejudecaţii adulţilor din anturaj) ;
- *simptome legate de excesul ponderal* (dezadaptare cardio-circulatorie, oboseală, polipnee, dispnee la eforturi moderate, picior plat, dureri articulare).

Cauzele obezităţii pot fi :

- transmiterea genetică (greu de demonstrat, dar cu certitudine implicată) ;
- mediul (lipsa cunoştinţelor legate de o alimentaţie sănătoasă ; alimente ieftine cu conţinut crescut de grăsimi şi aport proteic redus ; stresul) ;
- părinţii (folosesc mâncarea ca mijloc de recompensă, mâncarea se asociază cu linişte, confort, stare de bine, supraalimentează copilul crezând că îi asigură astfel o rezistenţă crescută la îmbolnăvire) ;
- copiii supraponderali sunt mai puţin activi şi mai inerţi, se uită mai mult la televizor ;

- copiii supraponderali au tendinţa de a manca repede şi de a înghiţi mâncarea insuficient masticată.

Consecinţele obezităţii. Din nefericire aspectul fizic este unul din criteriile importante de acceptare socială astfel că indivizii obezi sunt mai puţin plăcuţi de cei din jur, consideraţi adesea neatrăgători, neinteresanţi pentru anturaj, care tinde să-i ignore, să-i izoleze sau chiar să-i dispreţuiască.

Complicaţiile obezităţii derivă din faptul că aceasta reprezintă un factor de risc pentru HTA, bolile ale aparatului ostoioarticular, bolile endocrine fiind un factor de comorbiditate la persoana adultă.

OBIECTIVE

Obiectivele studiului au fost : evaluarea implicaţiilor sociale şi psihologice negative ale obezităţii asupra adaptării adolescenţilor la mediul psiho-social ; identificarea comportamentului / stigmatizării anturajului faţă de adolescenţii obezi şi identificarea unor conflicte psihologice generate de anturaj la adolescenţii obezi.

MATERIAL ŞI METODĂ

Ipoteza de lucru de la care s-a plecat este aceea că adolescenţii obezi sunt mai frecvent victimele agresiunii colegiale şi au mai puţine posibilităţi de implicare în relaţii amoroase.

Lotul de lucru este alcătuit din 342 de elevi din clasele a IX-a, a X-a, a XI-a si a XII-a dintr-un liceu bucureştean.

Cercetarea s-a efectuat pe baza unor chestionare direcţionate spre decelarea gradului si tipului de agresiune (directă sau relaţională), la care sunt supuşi adolescenţii obezi, precum şi a nivelului de implicare a acestora în relaţii cu persoanele de sex opus.

Determinările antropometrice realizate au constat în calcularea IMC (G/T) (indicele de masa corporală) pentru diagnosticarea obezităţii. Astfel, lotul de studiu a fost împărţit în trei grupe : obezi (peste percentila 95/IMC > 30), supraponderali (între percentilele 85 şi 94/25 < IMC < 30) şi normoponderali (sub percentila 85/IMC < 25).

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Datele obţinute din determinările antropometrice şi prin aplicarea chestionarelor au fost prelucrate statistic, evidenţiindu-se următoarele aspecte : lotul studiat este format din 342 de adolescenţi, elevi de liceu din care 192 sunt fete, reprezentând 56% şi 150 sunt băieţi, reprezentând 44% (tab. I).

Din punct de vedere antropometric, obezitatea se caracterizează printr-un exces de greutate faţă de talie raportat la vârstă şi prin modificarea compoziţiei corporale prin exces de ţesut adipos.

Calculând indicele de masa corporală, lotul studiat a fost împărţit în 3 grupe : obezi (peste percentila 95/IMC > 30), supraponderali (între percentilele 85 şi 94/ 25 < IMC < 30) respectiv normoponderali (sub percentila 85/IMC < 25) (tab. II).

Adolescenţa este un moment esenţial pentru studierea modului în care obezitatea influenţează relaţiile sociale ale adolescenţilor. Adolescenţii sunt în căutarea propriei identităţi si au nevoie de sprijinul anturajului (al colectivităţii de aceeaşi vârsta) pentru a le confirma statutul social în cadrul grupului.

TABELUL I

Structura lotului studiat pe clase şi sexe

	Fete	Fete	Băieţi	Băieţi	Total	
Clasa a IX-a	46	13,40%	38	11,20%	84	24,60%
Clasa a X-a	51	14,90%	35	10,20%	86	25,10%
Clasa a XI-a	48	14,00%	37	10,80%	85	24,80%
Clasa a XII-a	47	13,80%	40	11,70%	87	25,50%
Total	192		150		342	

TABELUL II

Distribuţia lotului studiat în raport cu IMC

	Normoponderali		Supraponderali		Obezi		Total	
Fete	170	88,54%	15	7,81%	7	3,65%	192	100%
Băieţi	133	88,67%	12	8,00%	5	3,33%	150	100%
Total	303		27		12		342	

Tinerii care sunt stigmatizaţi datorită greutăţii sau formei corpului lor vor avea probleme in dobândirea abilitaţilor de relaţionare socială, astfel încât *dificultăţile de relaţionare cu colegii sunt predictive pentru consecinţele psihologice pe termen scurt si lung*.

Mult timp prin *victimizarea individului de către anturaj* s-au înţeles cele două tipuri de agresiune : fizică şi verbală incluse acum în noţiunea de agresiune directă. Astăzi utilizăm o noţiune nouă şi anume aceea de *agresiune indirectă/relaţională*. Deci, agresiunea asupra individului - în cazul nostru supraponderalului sau obezului - poate fi de două feluri :

- agresiune directă – verbală (insulte, replici răutăcioase) sau fizica (lovituri) – specifica *băieţilor ;*
- agresiunea indirectă sau relaţională – cu marginalizarea individului în cadrul grupului, excluderea lui din diferite activitatea, desconsiderarea lui ca membru al colectivităţii – specifică *fetelor.*

Studiul nostru si-a propus sa evalueze tocmai aceste doua tipuri de agresiune la nivelul lotului cercetat. Astfel au fost completate chestionare cu două secţiuni copil/ părinte în care au fost incluse date de identificare a individului ca vârsta, sexul, clasa, asigurând participantul de confidenţialitatea răspunsurilor sale. Elevii au fost anunţaţi cu o săptămână înainte pentru a putea refuza participarea în cazul în care ar fi dorit acest lucru.

Chestionarul a inclus 8 itemi referitori

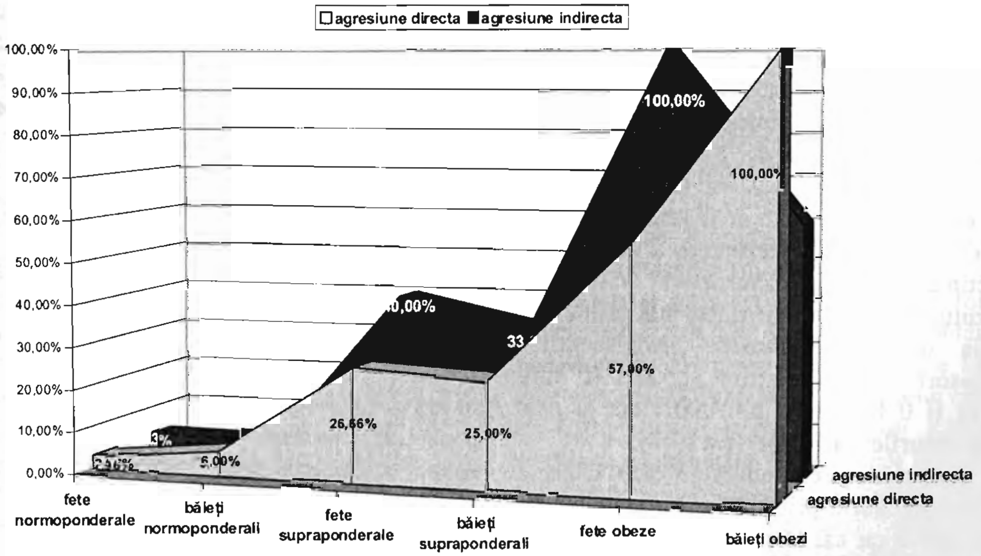


Fig. 1. Distribuţia lotului in raport cu cele doua tipuri de agresiune

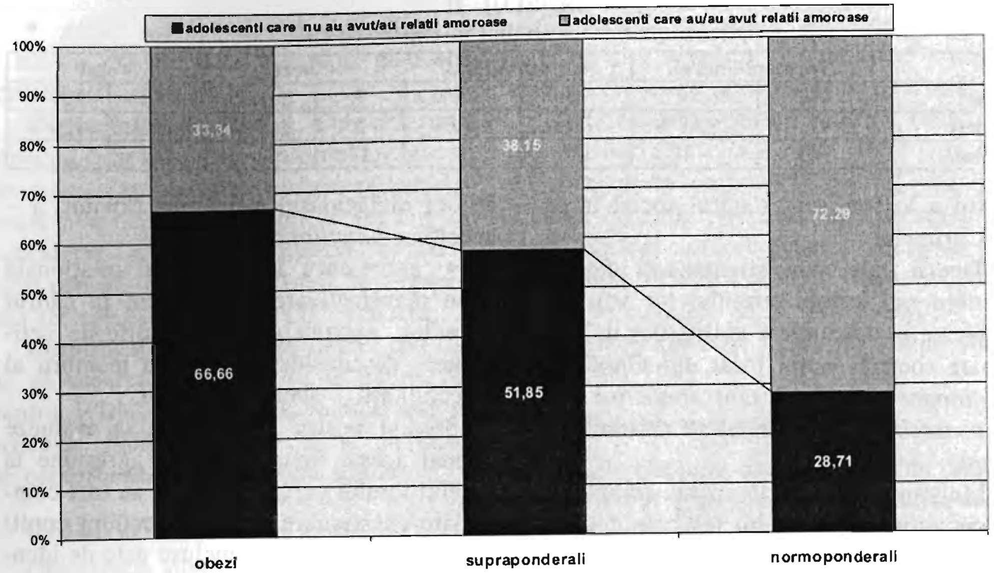


Fig. 2. Statusul relaţiilor cu persoanele de sex opus la adolescenţi

la comportamentele violente ale colegilor, fiecare prezentat în 2 versiuni. Versiunea agresorului cerea adolescentului să indice cât de des (1=niciodată, 2= o dată sau de două ori, 3=de câteva ori, 4=o dată pe săptămână, 5=de câteva ori pe săptămână) au fost implicaţi în fiecare din respectivele comportamente vizavi de un alt adolescent (ex: „Am urmărit un coleg cu intenţia de a-i face rău"). Versiunea victimei întreabă adolescentul de câte ori a fost victima fiecărui tip de comportament (ex: Un coleg m-a urmărit ca şi cum ar fi vrut să-mi facă rău"). Ordinea de prezentare a versiunilor victimă/agresor era alternativă. Validitatea rezultatelor a fost confirmată atât prin corelaţia dintre răspunsurile adolescenţilor agresori şi adolescenţilor agresaţi (r între 0,30 şi 0,40 pentru p<0,001) cât şi prin răspunsurile părinţilor (r<0,38).

Agresiunea relaţională pe care fetele o suferă în cadrul prieteniilor lor este cu atât mai gravă cu cât le privează pe acestea de siguranţa unei prietenii sincere, fireşti între adolescente de aceeaşi vârsta, de potenţialul ajutor de care ar avea nevoie, ceea ce atrage consecinţe cu efecte pe termen lung; literatura de specialitate susţine ca aceste fete au şanse de a-si finaliza studiile mai reduse decât colegele lor normoponderale ca şi de a se căsători.

Al doilea obiectiv al cercetării a fost evaluarea modului în care obezitatea influenţează relaţiile adolescenţilor cu persoanele de sex opus (cea de a doua parte a chestionarului destinat adolescenţilor – 4 itemi). În urma acestor întrebări subiecţii au fost împărţiţi în doua categorii:

- adolescenţi care au fost/sunt implicaţi în relaţii cu persoane de sex opus;
- adolescenţi care nu au fost niciodată implicaţi în relaţii cu persoane de sex opus.

Rezultatele au arătat ca *fetele obeze* aveau mult mai puţine şanse de a se implica în astfel de relaţii decât colegele lor normoponderale, folosind testul χ^2 s-a stabilit ca exista o legătura intre obezitate şi statul relaţiilor amoroase($\chi^2=6,45>3,84$), deci exista o relaţie de dependenţă între obezitate şi statusul relaţiilor amoroase. La *băieţi* însă nu poate fi afirmata cu certitudine o astfel de relaţie, testul χ^2 arătând valori mai mici de 3,84 pentru cele două variabile, ceea ce înseamnă că nu exista o relaţie de dependenţă între obezitatea şi statusul relaţiilor amoroase.

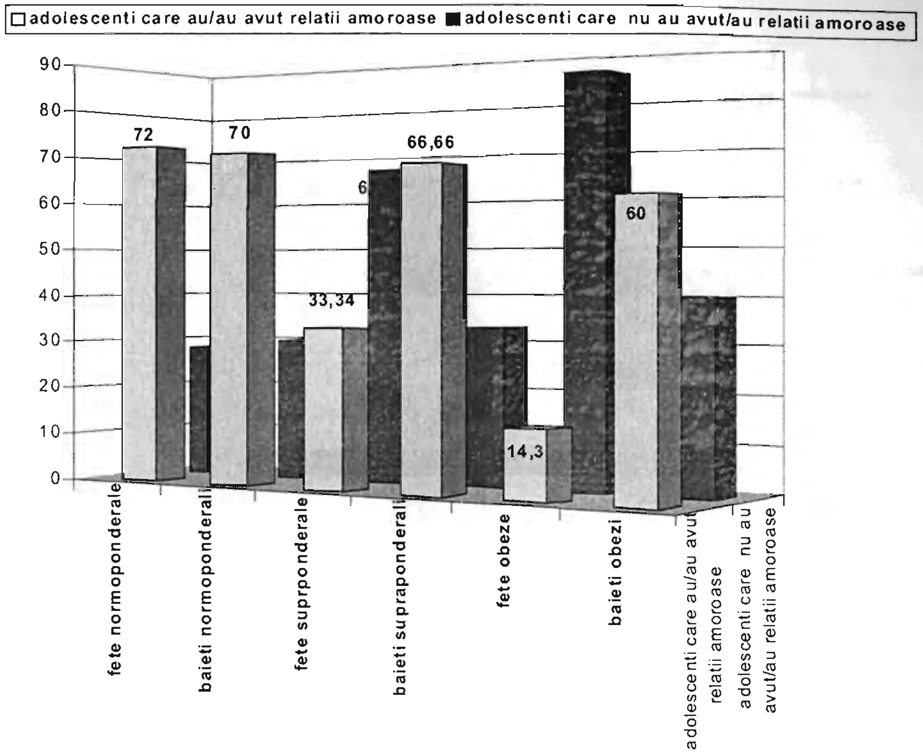


Fig. 3. Distribuţia lotului în funcţie de statusul relaţiilor cu persoanele de sex opus

Există totuşi o diferenţă sesizabilă între cele două sexe care ar putea fi explicată prin teoria dublului standard: băieţii preferă fetele cu un aspect fizic plăcut, considerând că în felul acesta îşi întăresc poziţia în cadrul grupului, în timp ce, pentru fete aspectul partenerului nu este atât de important ca pentru băieţi.

S-a încercat de asemenea ipoteza unei corelaţii între obezitate şi o posibilă modificare a randamentul şcolar (evaluat prin media generală a anului şcolar precedent), dar datele obţinute nu susţin o astfel de ipoteza (fig. 4). În lotul studiat, randamentul şcolar nu este semnificativ alterat, aşa cum menţionează literatura de specialitate, pentru că numărul copiilor investigaţi este mic - lotul fiind redus numeric – probabil un lot mai mare de studiu ar fi evidenţiat modificări semnificative al activităţii şcolare concretizate prin absenteism si rezultate mediocre la învăţătură.

Chestionarele au mai urmărit realizarea unei evaluări a gradului de mulţumire cu propria imagine a adolescenţilor obezi. S-a confirmat şi în acest caz ipoteza conform căreia aceştia suferă de serioase probleme psihologice, complexe de inferioritate cauzate de nemulţumirea legată de propriul corp.

Ultima parte a chestionarului a vizat evaluarea consecinţelor psiho-sociale ale agresiunii colectivităţii asupra individului obez, şi anume tulburările de comportament de tip – frustrare, anxietate, depresie, idei de suicid. După cum reiese din figura 5, frecvenţa acestor tulburări creşte semnificativ

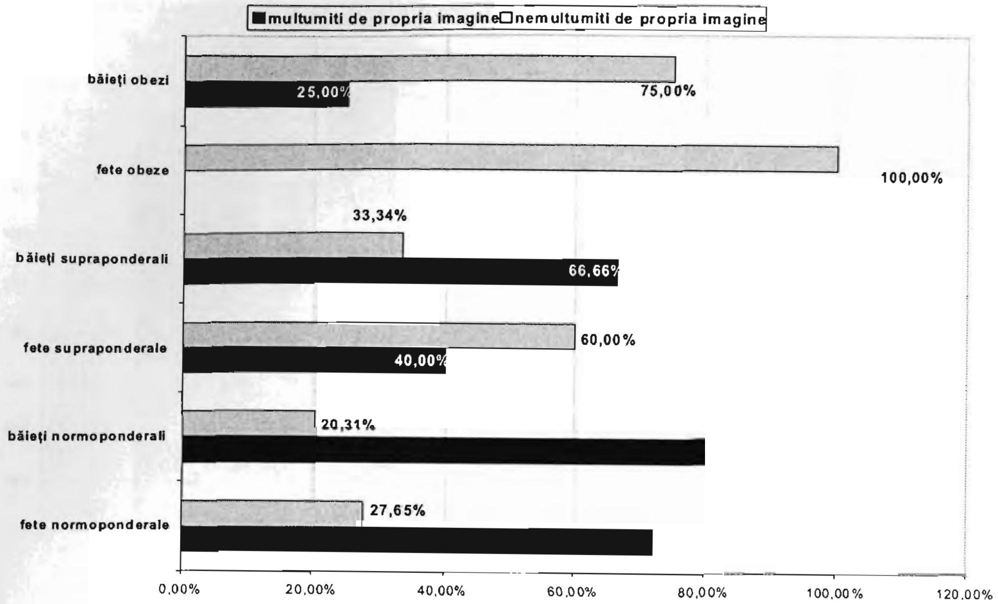


Fig. 4. Distribuţia lotului funcţie de gradul de mulţumire cu propria imagine

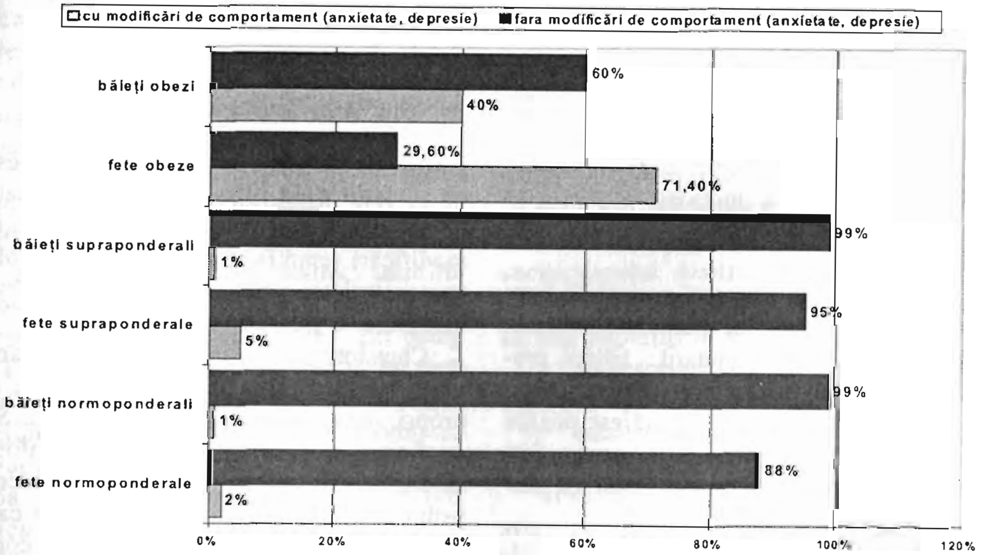


Fig. 5. Modificările de comportament în lotul studiat (anxietate, depresie)

la copiii obezi.

În chestionarul adresat părinţilor a existat un item cu privire la statusul socio-economic al familiei, dar o corelaţie între obezitate şi un status socio-economic scăzut (ca în majoritatea ţărilor în curs de dezvoltare) ori un status economic crescut (ca în ţările dezvoltate) nu s-a putu evidenţia.

CONCLUZII

Aşa cum ne-am aşteptat, adolescenţii obezi sunt mai frecvent victimele agresiunii

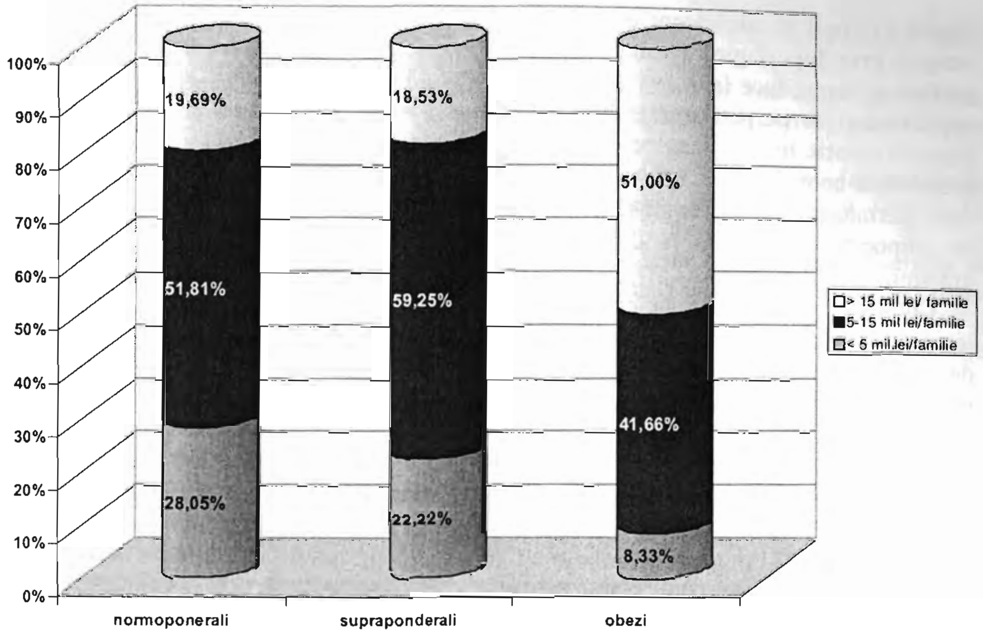


Fig. 6. Distribuţia cazurilor în funcţie de statusul economic al familiei

anturajului (cu specificitatea pe sexe a celor două tipuri de agresiune) şi au mai puţine şanse de implicare în relaţii cu persoane de sex opus.

Problemele psihologice sunt foarte frecvente, în special la adolescenţii obezi şi cu atât mai severe cu cât gradul obezităţii este mai accentuat. Adolescenţii obezi demonstrează la testarea psihologică sentimente de inferioritate, insatisfacţie referitoare la propria persoană, izolare socială, frustrare, conflicte familiale şi un grad de imaturitate emoţională şi psihică.

Stigmatizarea şi stereotipiile negative, asociate obezităţii, antrenează consecinţe psiho-sociale pe termen scurt şi lung. Adolescenţa este perioada cea mai importantă din evoluţia individului din punct de vedere al dezvoltării personalităţii şi abilităţilor de relaţionare socială – în aceasta perioadă individul preţuieşte mai mult decât în orice altă etapă a dezvoltării sale relaţiile cu anturajul, bazându-se pe susţinerea grupului în construirea propriei imagini despre sine. Un eşec al acestor experienţe sociale îşi va pune amprenta asupra comportamentului individului în societate pe tot parcursul vieţii sale, alterându-i ireparabil capacitatea de relaţionare cu semenii săi.

Adolescenţii supraponderali / obezi din cauza lipsei satisfacţiilor sociale şi a autoaprecierii deficitare au tendinţa la hiperfagie, care creşte şi mai mult gradul obezităţii, închizând astfel un cerc vicios.

Obezitatea la adolescent poate duce la un negativism total şi îl poate împiedica să-şi facă modificările psihologice necesare în cursul vieţii ca adult - abandonarea precoce a studiilor, dificultatea în găsirea unui partener de viaţă, inadaptarea socială.

PROPUNERI

Eliminând cauzele endocrine (hipotiroidism, hipogonadism, sindrom Babinsky Frolich), cea mai frecventă cauză de obe zitate la copii rămâne comportamentul alimentar – supraalimentaţie / malnutriţia „în exces". În marea majoritate a cazurilor obezitatea la copil şi adolescent este realizată exogen prin hiperfagie. Evoluţia arată că debutul ei se produce la vârsta de sugar sau copil mic şi se perpetuează la adolescent. Excesul caloric instituit precoce, contribuie la stabilirea unor obiceiuri nutriţionale inadecvate, permanente şi condiţionează numărul de adipocite şi tendinţa la depozitare de grăsimi.

Combaterea obezităţii la copii şi adolescenţi este o problemă de sănătate publică de maxim interes dată fiind exacerbarea în ultimii ani a promovării prin mass-media a unor produse cu proprietăţi organoleptice atrăgătoare (aşa numitele alimente nesănătoase) cu conţinut caloric ridicat şi o valoare nutritivă scăzută. Copiii şi adolescenţii reprezintă un grup populaţional în formare, foarte vulnerabil la aceste strategii de marketing, de aceea eliminarea acestor produse din alimentaţia curentă a adolescentului este foarte dificilă, dacă nu imposibilă, necesitând intervenţia şi conlucrarea tuturor instituţiilor implicate în formarea şi educarea tinerilor: societatea, familia si personalul medical.

SOCIETATEA

- interzicerea comercializării în şcoli a alimentelor nesănătoase;
- acordarea unei atenţii sporite în programa şcolară educaţiei fizice şi activităţilor sportive;
- limitarea reclamelor la alimente nesănătoase (*junk food*) destinate copiilor şi adolescenţilor;
- introducerea de ore de educaţie pentru sănătate - copiii să fie învăţaţi să mănânce sănătos şi să-si respecte semenii lor, indiferent de aspectul fizic.

FAMILIA

- să nu păstreze mâncare nesănătoasa în casă;
- să nu folosească mâncarea ca pe o pedeapsa sau ca o recompensă;
- copilul nu trebuie stigmatizat pentru ca e obez sau supraponderal, ci ajutat să adopte un comportament alimentar sănătos;
- părinţii trebuie să-şi înveţe copilul că o masa acasă are un aport nutritiv sensibil mai mare decât una într-un *fast – food*;
- o atenţie deosebită trebuie acordată perioadelor de vacanţă, când sunt necesare eforturi suplimentare în sensul organizării unor programe speciale de activitate fizică în afara şcolii pentru copiii obezi.

PERSONALUL MEDICAL trebuie sa conştientizeze:

- efectele psihologice ale obezităţii;
- dificultatea procesului de slăbire;
- „opoziţia" societăţii (prin publicitate) la eforturile individului de a se alimenta sănătos;
- explicarea detaliată a bolii sale şi a problemelor legate de ea;
- trasarea unui program dietetic şi de activitate realist pe care să-l poată urma;
- sprijinul moral şi de specialitate permanent şi un comportament plin de tact si de ataşament faţă de bolnav;
- şedinţe colective cu psihologul pentru adolescenţi care încurajează stabilirea de contacte sociale şi permit schimbul de experienţă.

BIBLIOGRAFIE

1. Bernfeld K. *Déjouer les troubles alimentaires. Obésité, anorexie, boulimie.* Paris: Ed. J'ai Lu, 2006.
2. Caballero B, Davis S, Davis C et al. Pathways A school-based program for the primary prevention of obesity in American Indian children. *J Nutr Biochem* 1998; 9: 535-543.
3. Danielzik M, Czerwinski-Mast D, Langnäse K, Dilba B, Müller MJ. Parental overweight, socio-economic status and high birth weight are the major determinants of overweight and obesity in 5-7 y-old children: baseline data of the Kiel Obesity Prevention Study (KOPS). *J Obesity* 2004; 28: 1494-1502.
4. Edmundson E, Parcel G, Feldman H et al. The effects of the child and adolescent trial for cardiovascular health upon psychosocial determinants of diet and physical activity behavior. *Prev Med* 1996; 25: 442-454.
5. Gallaher MM, Hauck FR, Yang-Oshida M, Serdula MK. Division of Nutrition - Obesity among Mescalero preschool children. Association with maternal obesity and birth weight. Centers for Disease Control, Atlanta. *Ped Adolescent Med* 1999; 145 (11): 104-108.
6. Must A, Jacques P, Dallal G, Bajema C, Dietz W. Long-term morbidity and mortality of overweight adolescents. A follow- up of the Harvard Growth Study of 1922 to 1935. *N Engl J Med* 1992; 327: 1350-1355.
7. Schaefer-Graf UM, Pawliczak J, Passow D et al. Birth weight and parental BMI predict overweight in children from mothers with gestational diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28: 1745-1750.
8. Vandongen R, Jenner D, Thompson C et al. A controlled evaluation of a fitness and nutrition intervention program on cardiovascular health in 10- to 12-year-old children. *Prev Med* 1995; 24: 9-22.
9. Vanhala M, Vanhala P, Kumpusalo E, Halonen P, Takala J. Relation between obesity from childhood to adulthood and the metabolic syndrome: population based study. *Br Med J* 1998; 317: 319-320.

NOUTĂŢI

CORELAŢII ÎNTRE AMENOREEA PRIMARĂ/SECUNDARĂ ŞI ANOMALIILE CROMOSOMULUI X

Autorii au făcut un studiu retrospectiv, pe 32 de ani, referitor la corelaţiile dintre prezenţa amenoreei şi a anomaliilor cromosomului X, la femei investigate clinic şi citogenetic la Spitalul Clinic Universitar din Porto Alegre, Brazilia. Au fost identificate 141 de femei cu amenoree, din care 101 aveau amenoree primară, iar restul prezentau amenoree secundară. La toate pacientele investigate citogenetic a fost făcut în prealabil un examen clinic minuţios ce a vizat măsurători antropometrice şi identificarea semnelor clinice de sindrom Turner. Examenul citogenetic a fost efectuat pe bază de cultură de limfocite T, urmată de marcaj cromosomic de tip G. Anomalii cromosomice au fost decelate la 41 de paciente, dar 6 dintre acestea nu au fost luate în studiu datorită unor date clinice incomplete. Monosomia X omogenă a fost decelată la 15 paciente, iar mozaicuri cromosomice numerice ce aveau şi o linie celulară cu monosomie X au fost identificate la 4 cazuri. În două cazuri a fost descoperită o trisomie X. În restul cazurilor au fost identificate anomalii cromosomice structurale ale cromosomului X: deleţii Xp sau Xq, isocromosomi Xq şi cromosomi inelari X. Autorii au stabilit că la femeile cu amenoree primară au predominat cazurile cu monosomie X completă (omogenă sau în mozaic), majoritatea (91%) având şi fenotip de sindrom Turner. În schimb, la femeile cu amenoree secundară cel mai frecvent au fost depistate anomalii cromosomice structurale ale cromosomului X, iar fenotipul de sindrom Turner au fost prezent la aproximativ jumătate dintre acestea (54,5%). În concluzie, autorii stabilit necesitatea efectuării cariotipului la orice femeie cu amenoree (primară sau secundară) chiar dacă nu există semne clinice de sindrom Turner (Rosa RFM, Dibi RP, Picetti JS et al. Amenorreia e anomalidades do cromossomo X. *Rev Bra Ginecol Obstet* 2008; 30 (10): 511-517).

E.V. Gorduza

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR **ARTICOLE ORIGINALE**

FACTORI DE RISC ÎN APARIŢIA CARIEI DENTARE - CONSUMUL DE DULCIURI ŞI BĂUTURI ACIDULATE

Cristina Petrescu, Maria Antal, Oana Suciu, R. Bagiu, T.R. Olariu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "V. Babeş" Timişoara
Facultatea de Medicină
Disciplina Igienă

RISK FACTORS OF DENTAL DECAY - SWEET AND ACID FOOD CONSUMPTION (Abstract): In the performed study we investigated the main risk factors in dental decay occurring. **Material and method**: The method was a transversal inquiry, with a specific questionnaire applying and registration of the patients' data in 10 dental selected offices, from Timişoara, during the year 2005. The material of study consisted in a sample of 60 patients with dental decay, homogenous and statistical representative, which were diagnosed and treated in the dental offices. **Results**: The obtained results pointed out the following aspects: predominant age group of dental decay was 15-20 years; in the first 7 years of life 90% of patients did not receive medication for dental decay prophylaxis; 23% patients consumed daily sweet food and 46% consumed acid food; 66% patients performed daily and twice per day oral hygiene. The average of index DMF (Decay Missing Filled) increased proportionally with the frequency and type of sweet food consumption (DMF was 40% for daily consumption and 42% for chocolate and other sticky sweets, respectively). Acid juices consumption was associated with increased DMF (40%). For a decreased DMF (11%) an oral hygiene of 3 times per day is necessary. **Conclusion**: Sweet, acid food consumption and improper dental hygiene are related with DMF index. **Key words**: SWEET FOOD, ACID FOOD, DENTAL DECAY, DECAYED MISSING FILLED INDEX

Caria dentară este definită ca un proces patologic distructiv al ţesuturilor dure dentare, cu evoluţie cronică, producând în final leziuni ale pulpei şi parodontului apical, iar prin complicaţiile sale poate afecta întreg organismul (1). Nutriţia şi stilul de viaţă determină dezvoltarea şi menţinerea dentiţiei sănătoase (2). Schema lui Keyes ilustrează factorii etiologici ai cariei dentare: placa dentară, zahărul, gazda şi factorul timp (durata contactului alimentului cu biofilmul bacterian de pe suprafaţa dentară, determinantă pentru evoluţia unei leziuni iniţiale spre o leziune evidentă, vizibilă clinic) (3).

MATERIAL ŞI METODĂ

În studiul efectuat am investigat principalii factori de risc în apariţia cariei dentare, consumul de dulciuri şi băuturi acidulate. Materialul de studiu a cuprins un eşantion omogen (57% femei, 43% bărbaţi) şi reprezentativ statistic, format din 60 pacienţi cu carie dentară, diagnosticaţi şi trataţi în 10 cabinete de medicină dentară, alese aleatoriu, câte 6 pacienţi cu carie dentară pentru fiecare cabinet). Metoda a constat într-o anchetă transversală, cu aplicarea unui chestionar specific (13 itemi) şi investigarea datelor pacienţilor din registrele medicale ale celor 10 cabinete de medicină dentară, din Timişoara, în anul 2005. Chestionarul aplicat cuprinde itemi cu referire la frecvenţa consumului de dulciuri şi băuturi acidulate, afecţiuni prezente şi tratamente cu risc de apariţie a cariei dentare, precum şi a măsurilor de profilaxie întreprinse pentru prevenirea ei (1). Din registrele medicale am extras diagnosticul, antecedentele personale patologice (APP), situaţia dentară. Pentru aprecierea situaţiei dentare am folosit indicele de carie DMF (Decay Missing Filled) care corespunde dentiţiei permanente, de regulă 28 dinţi. Indicele de carie este mai relevant dacă reflectă situaţia suprafeţelor dentare în parte (fiecărui dinte lateral îi corespund 5 suprafeţe, iar dinţilor frontali 4). S-a creat astfel un nou indice DMF-S = (numărul de suprafeţe afectate de carie x 100) : numărul total de suprafeţe). Indicele DMF, folosit astăzi pe plan mondial cu toate variantele sale, reprezintă un indice suficient de exact pentru înregistrarea experienţei carioase si a necesităţii de tratament a unui grup sau a unei populaţii, cât şi pentru aprecierea eficienţei măsurilor de profilaxie.

REZULTATE

Din cei 60 pacienţi diagnosticaţi cu carie dentară, 46% au avut vârste cuprinse între 15 şi 30 ani (fig. 1), iar 57% au fost femei (fig. 2).

Susceptibilitatea crescută la femei şi la această grupă de vârstă este susţinută de datele din literatura de specialitate, organismul suferind multiple transformări în această perioadă (creştere, schimbări hormonale, sarcină) (5).

În primii 7 ani de viaţă, 90% dintre pacienţi, diagnosticaţi şi trataţi pentru carie dentară nu au primit medicaţie (tablete fluorură de sodiu) pentru profilaxia cariei dentare (fig.3) şi nu au beneficiat de fluorizări topice. O cauză posibilă a absenţei

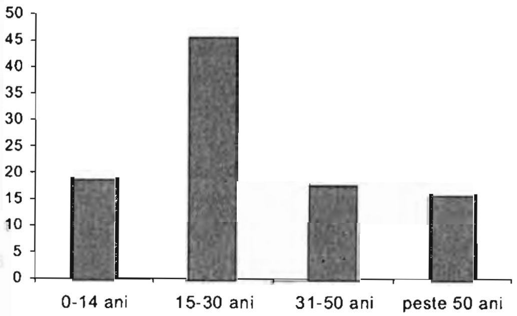


Fig. 1. Distribuţia pacienţilor (%) pe grupe de vârstă

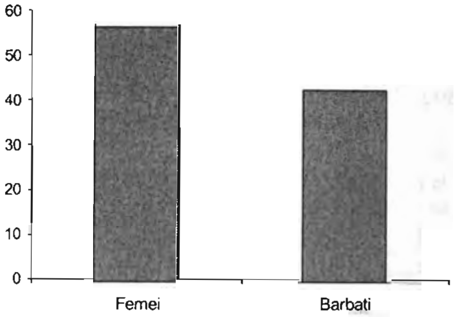


Fig. 2. Distribuţia pacienţilor (%) pe sexe

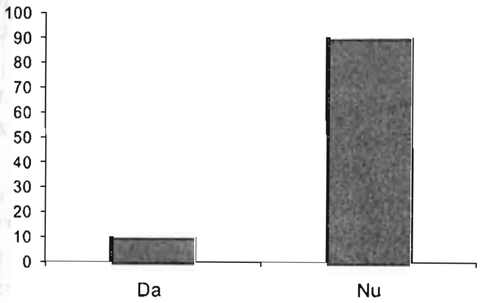


Fig. 3. Distribuţia pacienţilor (%) în funcţie de prezenţa/absenţa profilaxiei cu fluor a cariei

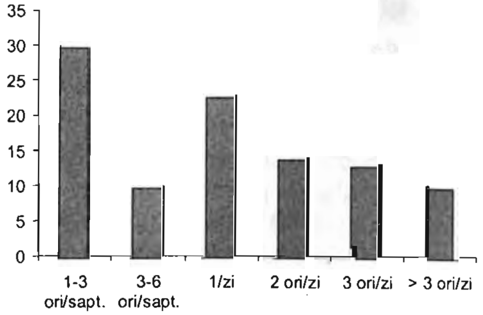


Fig. 4. Distribuţia pacienţilor (%) în funcţie de frecvenţa consumului de dulciuri

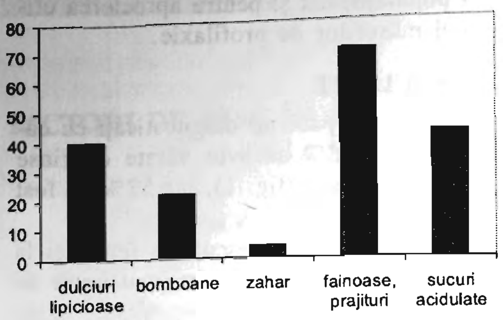


Fig. 5. Distribuţia pacienţilor (%) în funcţie de tipurile de dulciuri consumate

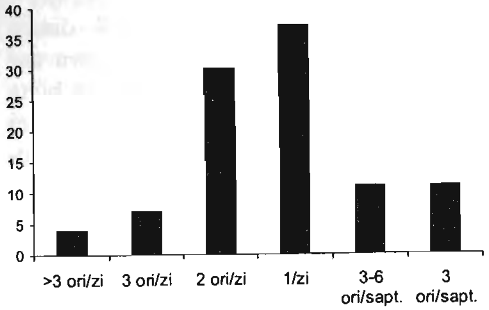


Fig. 7. Distribuţia pacienţilor (%) în funcţie de frecvenţa igienizării cavităţii bucale

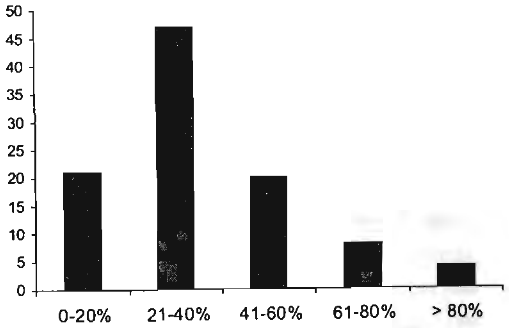


Fig. 9. Distribuţia pacienţilor (%) în funcţie de indicele de carie DMF

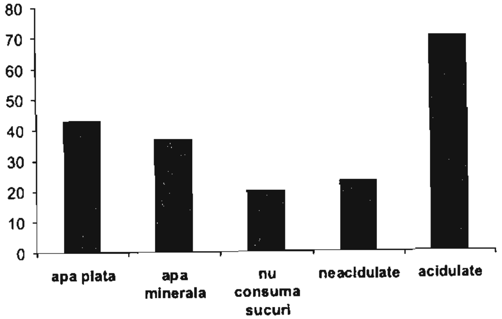


Fig. 6. Distribuţia pacienţilor (%) în funcţie de tipurile de băuturi răcoritoare consumate

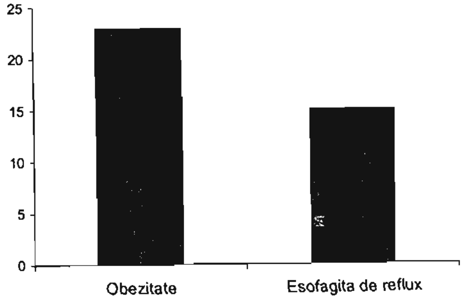


Fig. 8. Distribuţia pacienţilor (%) în funcţie de antecedentele patologice personale

profilaxiei cariei dentare este educaţia sanitară deficitară a părinţilor (6).

23% dintre pacienţii cu carie dentară diagnosticată au consumat dulciuri 1 dată/zi, iar 30% de 1-3 ori/săptămână (fig. 4).

24% dintre pacienţi au consumat dulciuri de 2-3 ori/zi. Mai mult de 50% dintre pacienţii cu carie dentară consumă dulciuri zilnic. Sortimentele de dulciuri consumate mai frecvent au fost prăjiturile (70%) şi dulciuri lipicioase - halviţa, nuga, ciocolata, caramelele, altele (40%), cunoscute ca factor de risc cariogen (7) (fig. 5).

Pacienţii investigaţi au consumat în proporţie crescută băuturi răcoritoare acidulate (70%) şi apă minerală - cu dioxid de carbon (37%) (fig. 6). Dintre sortimentele de băuturi acidulate consumate, Coca Cola (60%) reprezintă procente însemnate.

Igienizarea cavităţii bucale s-a realizat predominant 1 dată (36%) şi de 2 ori pe zi (30%), fiind insuficientă (fig. 7).

O igienizare corectă a cavităţii bucale necesită spălarea pe dinţi de cel puţin 3 ori/zi (2). După consumul de dulciuri 74% dintre pacienţii investigaţi nu se spală pe dinţi, iar după consumul de băuturi răcoritoare un procent şi mai mare (90%) renunţă la această măsură de profilaxie. 23% dintre pacienţi au în antecedentele personale patologice obezitatea care se asociază frecvent cu consumul de dulciuri şi esofagita de reflux (15%) care reprezintă un factor de risc cariogen prin caracterul acid al sucului gastric refluat (fig. 8).

47% dintre pacienţi prezintă un indice DMF de 21-40% din suprafaţa dentară totală, iar 20% prezintă un indice DMF şi mai crescut, de 41-60% din suprafaţă (fig. 9).

La pacienţii care au consumat dulciuri 1 dată/zi indicele de carie a fost de 30%, crescând la 40% şi 46% la un consum de dulciuri de 2 ori/zi respectiv de 3 ori/zi (tab. I).

În ceea ce priveşte tipul de dulciuri consumate, pacienţii care au consumat prăjituri şi dulciuri lipicioase au prezentat o medie a indicelui DMF de 37% respectiv 42% (tab. II).

De asemenea, pacienţii consumatori de băuturi acidulate au prezentat o medie a indicelui DMF de 40% (tab. III) (2,7).

Indicele DMF variază invers proporţional cu frecvenţa igienizării cavităţii bucale. La o igienizare a cavităţii bucale mai rar de 1 dată/zi media indicelui DMF la pacienţii investigaţi a fost peste 37% (tab. IV).

L-a pacienţii care consumă dulciuri de 3-6 ori/săptămână şi îşi efectuează igienizarea cavităţii bucale de cel puţin 2 ori/zi s-a evidenţiat o medie a indicelui DMF de 21%, iar asocierea consumului zilnic de

TABELUL I

Media indicelui DMF la pacienţi în funcţie de frecvenţa consumul de dulciuri

Frecvenţa consumului	Media indicelui DMF
1-3 ori/săptămână	24%
3-6 ori/săptămână	17%
1 dată/zi	30%
2 ori/zi	40%
3 ori/zi	46%

TABELUL II

Media indicelui DMF la pacienţi în funcţie de tipurile de dulciuri consumate

Tipuri de dulciuri consumate	Media indicelui DMF
Dulciuri lipicioase	42%
Bomboane	37%
Zahăr rafinat	19%
Prăjituri	37%
Sucuri dulci	38%

TABELUL III

Media indicelui DMF la pacienţi în funcţie de băuturile răcoritoare consumate

Băuturi răcoritoare consumate	Media indicelui DMF
Băuturi acidulate	40%
Băuturi neacidulate	18%
Sucuri dulci	30%
Nu consumă sucuri	27%

TABELUL IV

Media indicelui DMF la pacienţi în funcţie de frecvenţa periajului dentar

Frecvenţa periajului dentar	Media indicelui DMF
1-3 ori/săptămână	41%
3-6 ori/săptămână	50%
1 dată/zi	37%
2 ori/zi	25%
3 ori/zi	11%
Mai mult de 3 ori/zi	-

TABELUL V

Media indicelui DMF în funcţie de asocierea frecvenţei consumului de dulciuri şi a igienizării cavităţii bucale

Frecvenţei consumului de dulciuri	Frecvenţa igienizării cavităţii bucale	Media indicelui DMF
3-6 ori/săpt.	2 -3 ori/zi	21%
1-3 ori/zi	max.1 dată/zi	45%

dulciuri cu o igienizare de maxim 1 dată/zi a arătat un indice DMF de 45% (tab. V). Calcularea coeficienţilor de corelaţie Bravais Pearson a arătat o corelaţie foarte puternică consum de dulciuri lipicioase - indice DNF (r=0,92) şi corelaţii medii între: consum băuturi acidulate - indice DNF (r=0,68) şi frecvenţa igienizării cavităţii bucale - indice DNF (r=0,60).

CONCLUZII

Dintre cei 60 de pacienţi diagnosticaţi cu carie dentară, majoritatea au fost femei şi aparţin grupei de vârstă 15-30 de ani. Cei mai mulţi dintre pacienţi nu au beneficiat de profilaxia cariei dentare în primii 7 ani de viaţă. Măsurile de profilaxie a cariei dentare prin igienizarea cavităţii bucale au fost deficitare, igienizarea cavităţii bucale realizându-se cel mai frecvent de 2 ori/zi.

Comportamentul alimentar la pacienţii investigaţi nu a fost corespunzător alimentaţiei raţionale (7). Majoritatea pacienţilor au consumat dulciuri, preferate fiind prăjiturile şi dulciurile lipicioase, şi băuturi răcoritoare acidulate, preferată fiind Coca Cola. Antecedentele personale patologice (obezitatea şi esofagita de reflux) sunt condiţii care susţin consumul de dulciuri şi de băuturi acidulate la pacienţii investigaţi.

3. Indicele de carie DMF creşte direct proporţional cu frecvenţa consumului de dulciuri şi băuturi acidulate şi cu igienizarea necorespunzătoare a cavităţii bucale.

4. Consumul scăzut de dulciuri asociat cu o igienizare corectă a cavităţii bucale este însoţit de valori scăzute ale indicelui DMF la pacienţii investigaţi.

BIBLIOGRAFIE

1. Iliescu A, Gafar M. *Cariologie şi odontoterapie restauratoare*. Bucureşti: Ed. Medicală, 2002.
2. Podariu AC, Galuscan A, Văcaru R, Munteanu R. *Tratat de prevenţie oro-dentară*. Timişoara: Ed. Waldpress, 2003.
3. Cârligeriu V, Bold A. *Odontoterapie restauratoare*. Timişoara: Ed. Mirton, 2000.
4. Glavan F. *Pedodonţie*. Timişoara: Lito Universitatea de Medicină şi Farmacie „V. Babeş", 2003.
5. Gafar M, Panaite H, Petrache V. *Afecţiunile buco-dentare şi sarcina*. Bucureşti: Ed. All, 2004.
6. Hume WR, Graham IM. *Conservarea şi restaurarea structurii dentare*. Bucureşti: Ed. All, 2004.
7. Chirilă P. *Alimentaţia raţională a omului sănătos*. Craiova: Ed. Naţional, 2004.

NOUTĂŢI

TUMORA SETTLE

Tumora SETTLE *(spindle epithelial tumor with thymus-like differentiation)* este o formaţiune tumorală rară, care apare la nivel tiroidian la copil sau adultul tânăr. Deşi are malignitate redusă şi prognostic favorabil după tratament, particularitatea sa constă în posibilitatea de a determina apariţia de metastaze osoase la un interval de timp mare după tratamentul iniţial (chiar şi 20 de ani). Scintigrafia tiroidiană cu ^{99m}Tc tetrofosmin în două faze, utilizată şi în diagnosticul adenomului paratiroidian, este pozitivă şi în cazul tumorii SETTLE, fiind, astfel, un posibil diagnostic diferenţial (Ajmi S, Trimeche S, Nouira M, Sfar R, Trabelsi A, Essabbah H. Spindle epithelial tumor with thymus-like differentiation of the thyroid. *Clin Nucl Med* 2008; 33 (12): 887-888).

Cipriana Ştefănescu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR **ARTICOLE ORIGINALE**

STUDIU COMPARATIV ASUPRA APORTULUI DE NUTRIENŢI ENERGETICI LA PERSOANELE VÂRSTNICE INSTITUŢIONALIZATE DIN MUNICIPIUL GALAŢI

Costinela Georgescu [1], F.D. Petrariu[2], L.L. Indrei[2], Viorica Gavăt[2]
1. Autoritatea de Sănătate Publică a Judeţului Galaţi
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr. T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
2. Disciplina de Igienă - Sănătatea Mediului

COMPARATIVE STUDY ABOUT THE INTAKE OF ENERGETIC NUTRIMENTS AT ELDERLY INSTITUTIONALIZED PERSONS FROM GALATI CITY (Abstract): In this study we have analyzed, by comparison, the quality of nutrient intake at different groups of elderly institutionalized persons, in order to identify if there are significant differences between the nutrition provided in these institutions. **Material and method**: The nutrition of 313 elderly persons was analyzed retrospective, along a period of 5 years (2002-2006), in three different locations from Galaţi city, using the standardized nutritional inquiry protocol. Statistical assessment was realized with program *EpiInfo 3.3* by univariate analysis, using descriptive statistical indicators; the significance was assessed with *t-Student* test. **Results**: In two of three institutions (A and C) are assisted persons over 71 yrs. old compared to the third locations where are mainly persons over 61 yrs. old. In location A we've identified major overcomes (percentage variation over 20%) for all the nutrients, with a special mention for animal proteins and vegetal fats intake. In locations B and C the founded results indicates the same major overcome for all the nutrients, with the most serious situation for vegetal fats. If we analyze the absolute values of the nutrient intake, between all these types of nutrition are significant differences. In location B an elderly receives (on average) significant more energetic nutrients than in location C (p<0,001) and in location A (p<0,001) with a single exception, for animal proteins. In location A an elderly receives (on average) significant more vegetal proteins (p=0,00018) and significant less vegetal fats (p=0,0000277) than in location C. By consequence, in all analyzed locations, with a special mention for location B, elderly persons are confronted regularly with a hyper caloric meal. **Conclusions**: In all the analyzed institutions elderly persons receive an unbalanced and hyper caloric nutrition (especially women), composed mainly by nutrients provided by cheap food groups. All the differences are indicating the lack of attention for structuring the daily meal according to RDAs in persons with a high health risk profile. **Key words**: ELDERLY, INSTITUTIONALIZED, NUTRIENTS, ENERGY

În această primă decadă a secolului XXI asistăm la o îmbătrânire demografică, asociată cu o diminuare a ponderii populaţiei tinere şi adulte (1,2). În ţara noastră acest proces este mai accentuat în mediul rural, datorită fenomenului de migraţie de la sat la oraş şi a plecării forţei de muncă în străinătate (în special după anul 2000).

Alimentaţia este o nevoie fundamentală a omenirii pentru a trăi, iar dacă aceasta este corectă, cresc şansele de conservare ale sănătăţii şi deci de prelungire a duratei vieţii (3).

Modificările fiziologice care se instalează la vârstnici pot afecta funcţiile aparatului digestiv şi ca urmare echilibrul nutritiv al organismului. În sens invers, îmbătrânirea este un proces natural, iar unii factori precum bagajul genetic, alimentaţia adecvată, activitatea fizică şi un tonus psihic bun, pot avea efecte pozitive asupra sa (4,5).

În această lucrare ne-am propus să analizăm comparativ calitatea nutriţiei persoanelor vârstnice instituţionalizate în centre de asistenţă socială, în raport cu nevoile specifice vârstei lor biologice şi să evidenţiem eventualele riscuri pentru sănătate, derivate din unele abateri constatate.

MATERIAL ŞI METODE

Studiul realizat este de tip retrospectiv şi a fost derulat timp de 5 ani (2002-2006) în trei centre de asistenţă a vârstnicilor din judeţul Galaţi: Căminul pentru persoane vârstnice *„Sf. Spiridon"* (A), Căminul pentru persoane vârstnice *„Ştefan cel Mare"* (B) şi *Centrul Medico-Social* Galaţi (C). În total au fost efectuate în cele trei locaţii, în cei 5 ani, 60 anchete alimentare, folosind metoda statistică, datele fiind culese anual în lunile ianuarie, mai, august şi octombrie.

Datele obţinute au fost comparate cu recomandările M.S.P. referitoare la alimentaţia persoanelor vârstnice (necesarul de proteine, de glucide şi lipide) şi au fost calculate variaţiile procentuale medii pentru toate categoriile de principii nutritive analizate. Prelucrarea statistică a datelor s-a realizat cu programul *EpiInfo 3.3*, prin analiză univariată, folosind indicatori statistici descriptivi. Pentru calculul semnificaţiei statistice între diferite valori medii s-a aplicat testul *t-Student*.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Din figura 1 reiese numărul şi procentul mai ridicat de bărbaţi în cele 3 loturi examinate.

Repartiţia persoanelor pe grupe de vârstă, denotă că în locaţia A predomină persoanele de peste 71 ani, în timp ce în locaţia B cele între 61-80 ani, iar în locaţia C, cei între 71-80 ani şi cei mai tineri din lot (fig. 2).

Ancheta alimentară calitativă urmăreşte acoperirea necesarului de principii nutritive, diferenţiat pe sexe, de aceea vom prezenta în tabelul ce urmează normele folosite (tab. I).

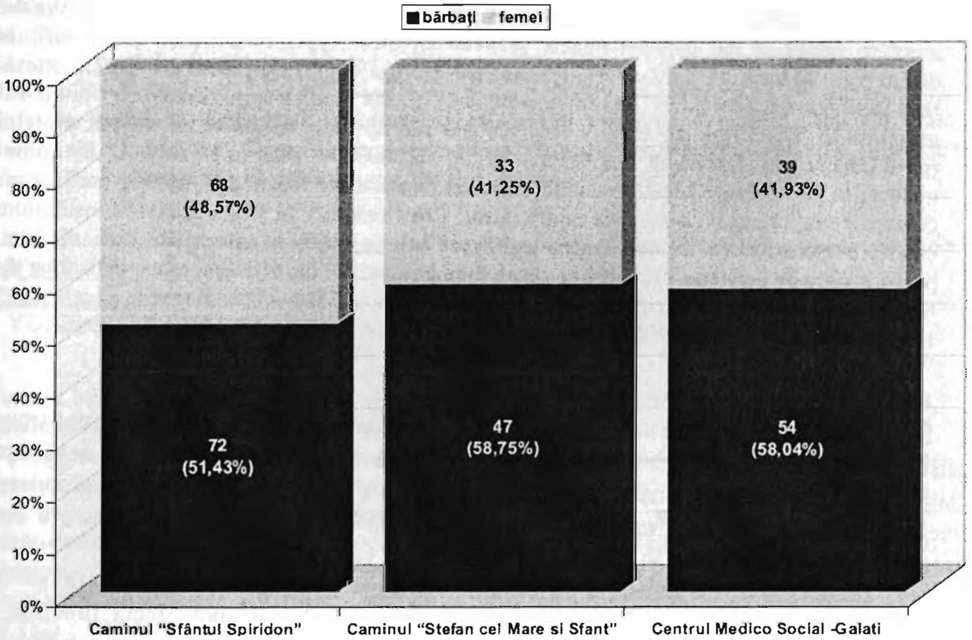


Fig. 1. Structura pe sexe a celor trei loturi de studiu

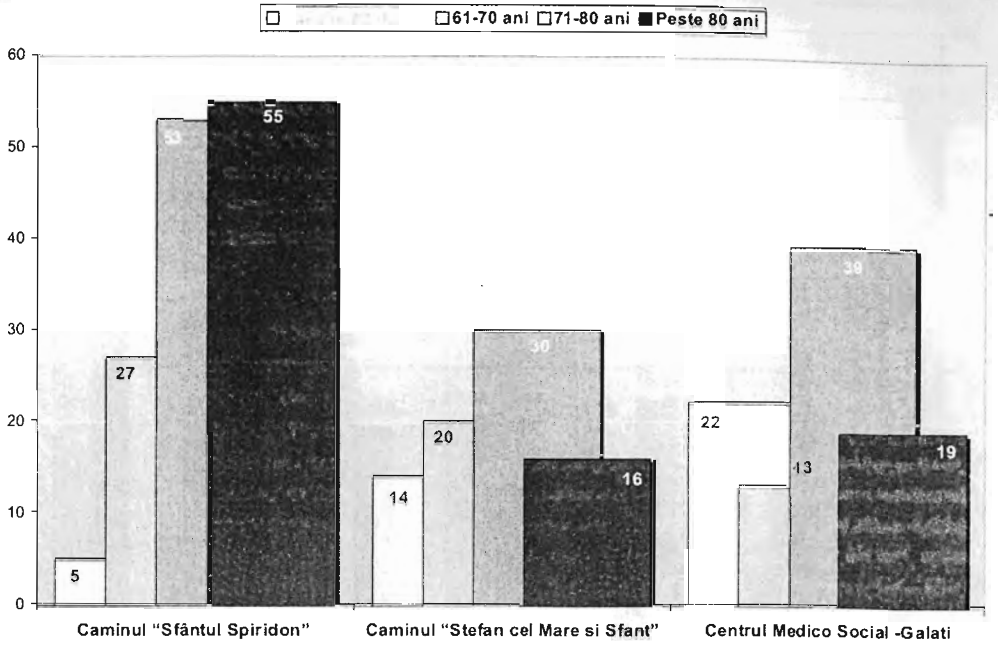


Fig. 2. Repartiţia persoanelor studiate pe grupe de vârstă

TABELUL I

Normele recomandate pentru aportul mediu zilnic de principii nutritive, la persoanele vârstnice

Principii nutritive	Norme recomandate (g/ persoană /zi)	
	Bărbaţi	Femei
Proteine animale	26,6	25,9
Proteine vegetale	41,9	35,1
Proteine totale	68,5	61,0
Lipide animale	44,5	41,7
Lipide vegetale	25,5	19,8
Lipide totale	70,0	61,5
Glucide	325,4	276,1

Din analiza datelor obţinute (fig.3) în urma efectuării anchetelor alimentare la Căminul A (*„Sfântul Spiridon"*) rezultă următoarele aspecte:

- proteinele animale au depăşit necesarul zilnic atât la bărbaţi cât şi la femei (cu 104,66% şi respectiv 110,19%);
- lipidele vegetale au fost reprezentate în raţia zilnică a femeilor în cantitatea cea mai mare, comparativ cu ceilalţi nutrienţi (depăşire cu 159,51%), pe când la bărbaţi în cantitate ceva mai redusă decât proteinele animale (depăşire cu 101,50%);
- depăşirile pentru proteinele vegetale au fost mai reduse (35,47% şi respectiv 61,72%) în comparaţie cu cele animale;
- glucidele au depăşit cu 21,54% normele recomandate pentru femei şi cu 43,24% pentru bărbaţi;
- lipidele animale au fost în exces doar pentru bărbaţi (21,19%);
- aportul zilnic de proteine totale a fost mai ridicat faţă de cel de lipide totale, care

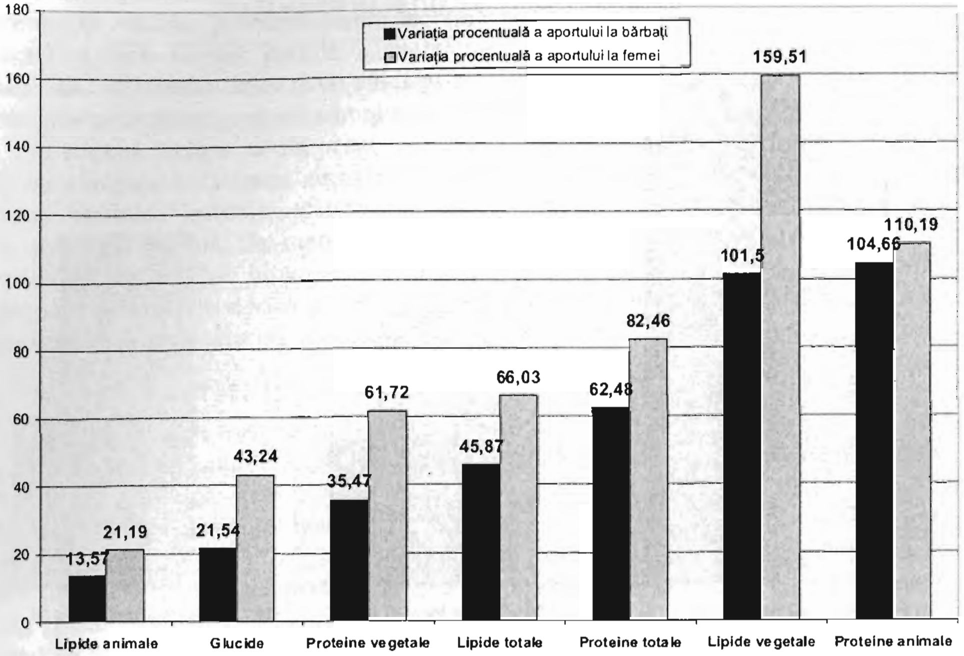


Fig. 3. Variaţiile procentuale ale aportului mediu de nutrienţi la *Căminul pentru persoane vârstnice „Sfântul Spiridon"*

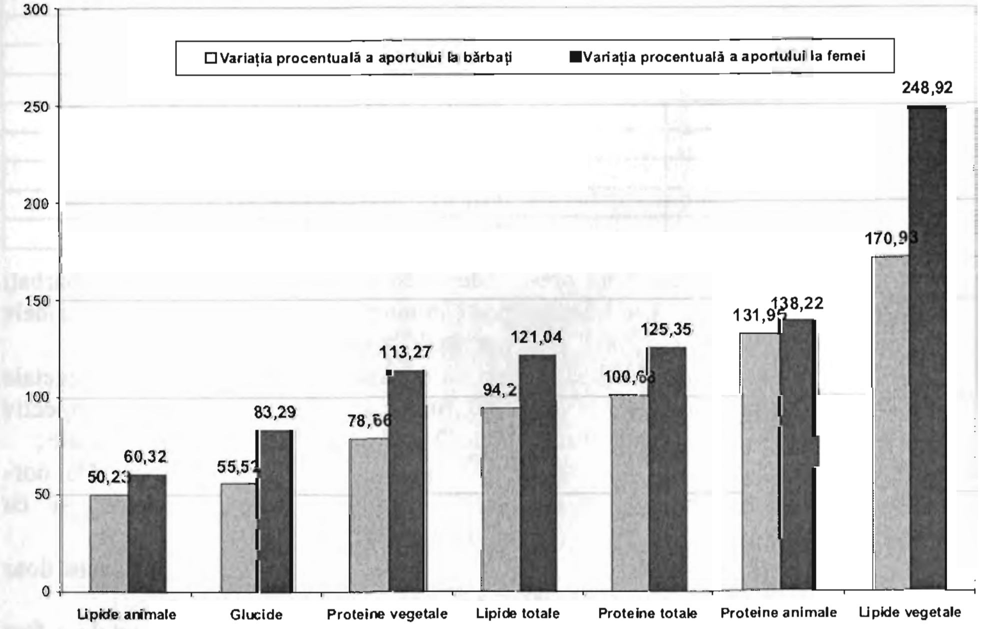


Fig. 4. Variaţiile procentuale ale aportului mediu de nutrienţi la *Căminul pentru persoane vârstnice „Ştefan cel Mare"*

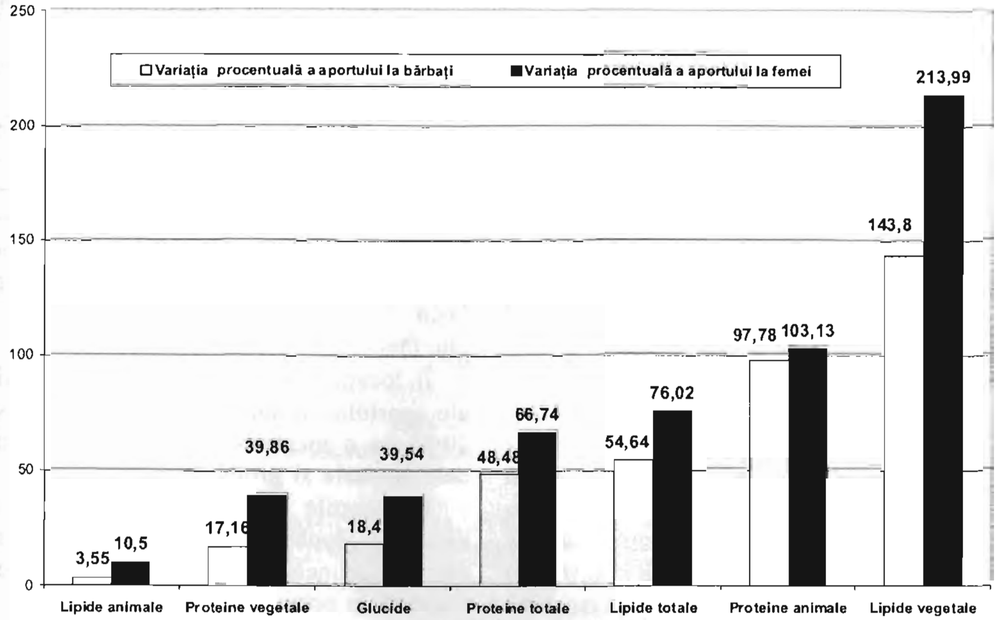


Fig. 5. Variaţiile procentuale ale aportului mediu de nutrienţi la *Centrul Medico - Social* Galaţi

la rândul lui l-a depăşit pe cel de glucide, la femei valorile variaţiilor procentuale fiind mai ridicate decât la bărbaţi.

În Căminul B („*Ştefan cel Mare*") (fig. 4), abaterile de la aportul zilnic de nutrienţi au fost următoarele:

- hrana zilnică excelează prin conţinutul crescut de lipide vegetale (depăşiri de 170,93% pentru bărbaţi şi 248,92% pentru femei);
- proteinele animale au depăşit normele cu 131,95% pentru bărbaţi şi cu 138,22% pentru femei;
- proteinele vegetale au fost incluse în alimentaţia zilnică în exces, în cantitate mai mare la femei (variaţie procentuală de 113,27%) faţă de bărbaţi (variaţie procentuală de 78,66%);
- glucidele, din punct de vedere al depăşirilor normelor se află pe penultimul loc, pe ultimul fiind lipidele animale;
- ca şi în cazul lotului precedent s-a constatat că hrana este bogată în primul rând în proteine totale, apoi în lipide totale şi pe ultimul loc se află glucidele.

În cadrul locaţiei C (fig. 5) situaţia găsită în urma analizei datelor obţinute din anchetele alimentare este următoarea:

- lipidele vegetale au fost pe primul loc privind cantitatea lor în raţia zilnică: depăşiri de 143,80% pentru bărbaţi şi 213,99% pentru femei;
- proteinele animale reprezintă al doilea tip de trofine ce sunt în exces în hrana zilnică: depăşesc necesarul cu 97,78% pentru bărbaţi şi 103,18% pentru femei;
- proteinele vegetale au depăşit normele recomandate cu procente mai reduse, respectiv cu 17,16% pentru bărbaţi şi 39,86% pentru femei;
- analizând cantitatea celor trei clase de trofine generatoare de energie, în alimentaţia persoanelor din această locaţie, se constată că hrana lor este bogată în proteine, cu depăşiri pentru sexul masculin de 48,48% şi respectiv pentru cel feminin de 66,74% a valorilor recomandate, lipidele totale prezintă depăşiri de 54,64% şi 76,12% şi cu cantităţi ceva mai reduse de glucide (depăşiri de 18,40% şi 39,54%).

Din calculul semnificaţiei statistice, în

TABELUL II

Abaterile aportului caloric în cele trei cămine analizate

Locaţia analizată	Variaţia aportului caloric la bărbaţi (%)	Variaţia aportului caloric la femei (%)
Căminul A	36,68	58,26
Căminul B	76,91	104,84
Căminul C	34,74	56,06

urma aplicării testului *t-Student*, rezultă că persoanele asistate în Căminul B în comparaţie cu cele din Căminul A primesc cantităţi mai mari din toate principiile nutritive, generatoare de energie ($p<0,001$), cu excepţia proteinelor animale ($p=0,0748$).

De asemenea, folosind acelaşi test *t-Student*, s-a demonstrat că persoanele din Căminul A primesc comparativ cu cele din Căminul C cantităţi semnificativ statistic mai mari de proteine vegetale ($p = 0,00018$) şi totale ($p = 0,017$). Invers, persoanele asistate în Căminul C primesc comparativ cu cele din Căminul A, cantităţi semnificativ mai mari de lipide vegetale ($p = 0,0000277$).

Din datele analizate şi prelucrate statistic, rezultă că persoanele din Căminul B primesc comparativ cu cele din Căminul C, cantităţi semnificativ mai mari din toate principiile nutritive generatoare de energie.

Persoanele asistate din cele 3 cămine primesc o alimentaţie hipercalorică, cu variaţii procentuale faţă de norme, după cum reiese din tabelul II. Din tabel se remarcă în Căminul B cele mai mari abateri privind aportul caloric, valori care sunt semnificativ mai mari decât în celelalte locaţii ($p<0,001$).

CONCLUZII

Aportul de trofine este corespunzător vârstei, cu abateri pozitive faţă de norme, ce sunt mai consistente pentru proteine, pe locul 2 se găsesc lipidele şi pe locul 3 glucidele.

În locaţia A s-au pus în evidenţă depăşiri ale aportului de nutrienţi (cu variaţii peste 20%) cu o menţiune specială pentru lipidele vegetale şi proteinele animale.

În locaţiile B şi C s-au descoperit de asemenea depăşiri ale aportului de nutrienţi, pe primele locuri situându-se lipidele vegetale şi proteinele animale.

Prin compararea valorilor absolute ale nutrienţilor ingeraţi în cele trei locaţii, se constată diferenţe semnificative: în locaţia B persoanele în vârstă primesc nutrienţi semnificativ mai mulţi decât în locaţia C ($p < 0,001$) şi locaţia A ($p < 0,001$) cu o singură excepţie, proteinele animale. În locaţia A raţia zilnică conţine mai multe proteine vegetale ($p = 0,00018$) şi mai puţine grăsimi vegetale ($p = 0,0000277$) decât în locaţia C.

Deci, deşi s-au identificat deosebiri privind aporturile de nutrienţi generatori de energie, între cele trei instituţii pentru persoanele vârstnice, alimentaţia lor are unele trăsături comune: este hipercalorică, ca urmare a consumului în exces a proteinelor, lipidelor şi glucidelor totale.

BIBLIOGRAFIE

1. Bălăceanu-Stolnici C. *Geriatrie practică*. Bucureşti: Ed. Medicală Amaltea, 1998.
2. Romoşan I, Szucsik IA. *Gerontologie*. Timişoara: Ed. Dinamis Print, 1996.
3. Bogdan C. *Geriatrie*. Bucureşti: Ed. Medicală, 1997.
4. Blumberg J. Nutritional needs of seniors. *J Am Coll Nutr* 1997; 16: 517-523.
5. Fritz K, Elmadfa I. Quality of nutrition of elderly with different degrees of dependency: elderly living in private homes. *Ann Nutr Metab* 2008; 52 Suppl 1: 47-50.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR **ARTICOLE ORIGINALE**

STUDIU RETROSPECTIV PRIVIND PROFILUL CLINICO-EPIDEMIOLOGIC AL INFECŢIEI CU VIRUS HEPATITIC B ŞI VIRUS HEPATITIC C LA 34 MILITARI INTERNAŢI ÎN SPITALUL MILITAR DE URGENŢĂ "DR. IACOB CZIHAC" IAŞI

C. Botez[1], Maria Liliana Iliescu[2], Georgeta Zanoschi[2]
Spitalul Militar Clinic de Urgenţă "Dr. Iacob Czihac" Iaşi
1 Secţia de Medicină internă
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
2 Disciplina de Sănătate publică şi Management

CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL PROFILE OF HEPATITIS B AND C VIRUS INFECTION: A 34 MILITARIES HOSPITALIZED IN A MILITARY HOSPITAL RETROSPECTIVE STUDY (Abstract): The hepatitis B and C virus infection is a public health problem due to the evolution of the disease and the quality of life of the patients, and the costs involved of the therapy and health care services. **Aim**: To asses the clinical and epidemiological profile of the 34 militaries hospitalized in a military hospital, infected with these viruses. **Material and method**: The main method of not being ill is to respect the common measures of prevention. **Conclusion**: It is strongly necessary to change the practices of improper parenteral treatment administration in healthcare workers practices, especially in rural areas.

Key words: HEPATITIS B AND C VIRUS INFECTION, MILITARY HOSPITAL, PREVENTION, PARENTERAL TREATMENT ADMINISTRATION

Fără îndoială, costurile determinate de serviciile de îngrijiri medicale pentru hepatita virală B (HVB) şi hepatita virală C (HVC) reprezintă o „încărcătură" grea pentru orice sistem de sănătate. În Coreea de sud, de exemplu, costul total al societăţii şi costurile specifice pentru bolile asociate HVB sunt de 959,7 milioane de dolari, respectiv 833,1 milioane de dolari (1). În SUA, costurile estimate pentru HVC în intervalul 2010-2019 sunt de 10,7 miliarde de dolari, la care se adaugă un cost adiţional de 21,3 miliarde de dolari pentru ciroză şi 54,2 miliarde pentru carcinomul hepatocelular (2). Îngrijirea bolnavilor cu HVB sau HVC s-a modificat spectaculos în ultimii 10-20 ani. Alegerea modalităţii de tratament specific fiecărui pacient este însă influenţată şi de factori, cum ar fi resursele serviciului de îngrijiri de sănătate, care limitează utilizarea terapiilor cele mai noi, şi care, în cele mai multe cazuri, ar aduce beneficii suplimentare pacienţilor.

MATERIAL ŞI METODĂ

Studiul clinico-epidemiologic este de tip retrospectiv, şi a fost efectuat pe un lot format din 34 militari spitalizaţi la Spitalul Militar din Iaşi, care au fost diagnosticaţi cu hepatite virale B şi C.

S-au prelucrat şi analizat informaţiile privind datele de identificare ale pacienţilor (vârstă, mediu de reşedinţă, gradul militar şi nivelul de şcolarizare), şi datele examenului clinic, simptomatologia aferentă, investigaţiile paraclinice, diagnosticul formulat (care se referă la gradul de severitate al bolii), factorul de risc incriminat în producerea bolii, complicaţiile survenite, tratamentul instituit şi prognosticul privind evoluţia bolii. Fişa de înregistrare pentru fiecare pacient a cuprins date de identificare a pacientului, gradul militar şi instruirea, examenul clinic şi simptomatologia, investigaţiile paraclinice, diagnosticul, factorul de risc incriminat, complicaţiile bolii, tratament şi prognostic.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Pacienţii diagnosticaţi cu HVB au fost în număr de 21 (61,8%) din cele 34 cazuri, cei cu HVC fiind în proporţie de 38,2% (respectiv 13 cazuri).

Vârstele celor investigaţi au variat între 19 şi 51 ani, vârsta medie fiind de 27,5 ani, vârsta modală -21 ani, şi deviaţia standard SD = ± 9,73 ani.

Militarii în termen reprezintă aproape 2/3 din cazurile internate (22 pacienţi), fapt ce poate fi corelat şi cu frecvenţa mare a celor cu studii medii sau liceale (21 cazuri, însemnând 61,7%).

Nivelul redus al instruirii şcolare poate fi un factor de risc pentru infecţia virală, printr-un grad crescut de ignoranţă, nepercepera importanţei educaţiei pentru sănătate, slaba conştientizare a drepturilor pacientului (respectiv dreptul la intervenţii medico-chirurgicale corecte şi refuzul acelora pe care le consideră improprii) sau de neînţelegere a măsurilor de prevenţie primară a bolii.

Frecvenţa simptomelor şi a semnelor clinice este prezentată în tabelul I.

Am analizat factorii de risc pentru toate cazurile investigate. S-au înregistrat în fişe antecedentele transfuzionale, antecedentele chirurgicale, intervenţiile stomatologice, contactul direct cu bolnavii sau contactul accidental cu produsele patologice, prezenţa purtătorilor de virusuri hepatitice în anturaj, tatuaj, şedinţe de acupunctură, parteneri sexuali multipli, utilizarea de droguri, consumul cronic de alcool. Acupunctura şi tatuajele nu sunt prezente ca factori de risc pertinenţi pentru lotul studiat. Asocierea factorilor de risc nu a fost decelată. Transmiterea parenterală a fost cea mai frecventă (47,1%). Următorul factor de risc incriminat este reprezentat de contactul direct cu bolnavii sau contactul accidental cu produsele patologice (8 pacienţi, respectiv 23,5%). Tratamentele stomatologice au fost incriminate în determinismul a 6 cazuri (17,6%) (tab. II).

Aproape orice caz de hepatită virală este potenţial sever, în perioada de instalare a bolii, evoluţia fiind practic greu previzibilă. Pentru recunoaşterea formelor severe trebuie căutate criteriile majore de severitate, care sunt clinice (persistenţa şi accentuarea tulburărilor digestive în perioada icterică, icterul intens, sindromul hemoragic, febra persistentă, astenia intensă) şi de laborator (teste de coagulare, amoniemia, transaminazele, leucograma şi encefalograma).

TABELUL I

Distribuţia simptomelor şi semnelor clinice la cei 34 militari diagnosticaţi cu HVB şi HVC

Simptome şi semne clinice	Nr. cazuri	%
Astenie	34	100,00
Tulburări dispeptice	34	100,00
Hepatomegalie (confirmată ecografic)	34	100,00
Icter	34	100,00
Urină hipercromă	34	100,00
Dureri abdominale	27	79,41
Inapetenţă	27	79,41
Scădere ponderală	15	44,12
Balonări postprandiale	14	41,17

TABELUL II

Factorii de risc incriminaţi în determinismul cazurilor de HVB şi HVC diagnosticate în Spitalul Militar Iaşi

Factori de risc	Nr. cazuri	%	Frecvenţă cumulată
Transmitere parenterală	16	47,1	47,1
Contact	8	23,6	70,7
Tratament stomatologic	6	17,6	88,3
Transfuzie	2	5,9	94,2
Apendicectomie	1	2,9	97,1
Neprecizat	1	2,9	100,00
Total	34	100,00	

TABELUL III

Distribuţia cazurilor de HVB şi HVC în funcţie de gravitatea bolii

Diagnostic	Nr. cazuri	%	Frecvenţă cumulată
HVB medie	12	35,3	35,3
HVB severă	1	2,9	38,2
HVB uşoară	8	23,5	61,8
HVC medie	7	20,6	61,8
HVC severă	2	5,9	82,4
HVC uşoară	4	11,8	88,2
Total	34	100,00	100,00

Distribuţia cazurilor în funcţie de gravitatea bolii indică o pondere mai mare a formelor medii, urmate de cele uşoare (tab. III).

Sindromul de hepatocitoliză a fost investigat prin cele două transaminaze: TGP şi TGO, cu valori mari şi foarte mari, media valorilor TGP fiind de 485,0 UI iar pentru TGO de 237,2 UI.

În studiul efectuat, 1/3 dintre cazurile de hepatită aveau un pronostic favorabil (32,4% din total: 7 pacienţi cu HVB şi 6 cu HVC), restul fiind reprezentat de cei cu un pronostic infaust (67,6%: 14 pacienţi cu HVB şi 9 pacienţi cu HVC).

Pacienţii au beneficiat de tratament medicamentos reprezentat de soluţii perfuzabile, hepatoprotectoare şi vitamine (16 pacienţi), la care s-au adăugat corticoizii (la 18 dintre pacienţi). Doi dintre aceştia au primit recomandare pentru tratament cu antivirale, iar în alte trei cazuri a fost necesară administrarea de tranchilizante.

CONCLUZII

1. În România, în cadrul sistemului de supraveghere epidemiologică, hepatitele virale sunt boli cu declarare nominală şi internare obligatorie în spitale/secţii de boli infecţioase.

2. Deşi repartiţia cazurilor de HVB şi HVC indică, pentru studiul nostru, „aglomerarea" la vârste tinere, aceasta nu semnifică o distribuţie atipică, cel puţin din două considerente: în primul rând, numărul relativ limitat de cazuri, şi, în al doilea rând, militarii care au constituit lotul de studiu nu asigură reprezentativitatea pentru populaţia generală. Deşi cele mai multe cazuri sunt din mediul urban, pacienţii cu vârste tinere provin din mediul rural.

3. „Aglomerarea" mai sus-menţionată

are o semnificaţie aparte. În această situaţie se observă eşecul măsurilor de prevenire primară a HVB şi HVC, şi, mai mult, aceste măsuri au elemente comune cu cele pentru prevenirea HIV/SIDA. Ţinând cont de statusul social relativ modest al celor care au constituit lotul de studiu, putem concluziona că responsabilitatea primară pentru prevenirea hepatitelor virale B şi C aparţine, preponderent, personalului medico-sanitar.

4. De o importanţă deosebită este educaţia pentru sănătate a populaţiei, dar şi educaţia tuturor persoanelor în ceea ce priveşte drepturile pe care le au ca pacienţi, de exemplu refuzul unui tratament care este efectuat, administrat, în condiţii improprii. Alături de aceste considerente se situează şi nevoia de schimbare a mentalităţii personalului medico-sanitar cu pregătire medie care, în condiţiile specifice mediului rural din România, asigură tratamente injectabile la domiciliul pacienţilor.

BIBLIOGRAFIE

1. Yang BM, Kim CH, Kim JY. Cost of chronic hepatitis B infection in South Korea. *J Clin Gastroentero.* 2004 ; 38 (10 Suppl) : S153-S157.
2. Wong JB, McQuillan GM, McHutchison JG, Poynard T. Estimating future hepatitis C morbidity, mortality, and costs in the United States. *Am J Public Health* 2000 ; 90 (10) : 1562-1569.

NOUTĂŢI

COMPRESIUNE VERSUS VASOCONSTRICŢIE ÎN TRATAMENTUL HEMATOAMELOR FEMURALE DUPĂ CORONAROGRAFIE PERCUTANĂ

Hematoamele femurale sunt complicaţii relativ frecvente apărute după intervenţiile de coronarografie percutană. Autorii compară eficienţa compresiunii (cu săculeţe de nisip) versus vasoconstricţie (cu comprese reci) în conduita terapeutică a hematoamelor femurale rezultate în urma tehnicii menţionate. Studiul a inclus 50 de pacienţi care au dezvoltat hematom cu aria de >/=30cm(2) după tehnica de cateterizare. O parte dintre ei au constituit lotul tratat prin compresiune cu săculeţi de nisip, ceilalţi fiind incluşi în lotul tratat prin vasoconstricţie (cu comprese reci). Ulterior fiecare caz a fost evaluat obiectiv-prin măsurarea hematomului la interval de 30 de minute timp de 3 ore, şi subiectiv-prin interogarea pacienţilor incluşi în studiu şi a cadrelor medicale privind gradul de satisfacţie faţă de metoda terapeutică. S-a constatat o diferenţă semnificativă între cele două grupuri, cel tratat prin vasoconstricţie avînd rezultate mai bune în ceea ce priveşte rata de reducere a dimensiunilor hematomului (interval de încredere 95% $P<0.05$). Studiul evidenţiază că metoda compresivă cu saculeţi de nisip - utilizată în prezent în practică - nu este şi cea mai eficientă. Vasoconstricţia prin comprese reci nu este încă recunoscută ca tehnică standard în terapia hematoamelor, rezultatele favorabile şi gradul crescut de acceptabilitate de către pacient - evidenţiate în studiul de faţă - urmînd să implementeze noi abordări în managementul hematoamelor post-coronarografie percutană (King NA, Philpott SJ, Leary A. A randomized controlled trial assessing the use of compression versus vasoconstriction in the treatment of femoral hematoma occurring after percutaneous coronary intervention. *Heart Lung* 2008 ; 37 (3) : 205-210).

Oana Mihalache-Boştină

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ DENTARĂ

ARTICOLE ORIGINALE

EFICIENŢA UNOR AGENŢI ANTIMICROBIENI ASUPRA MICROORGANISMELOR DIN SALIVĂ

Stela Carmen Hanganu, Alice Murariu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
Disciplina de Stomatologie Comunitară

THE EFFICIENCY OF SOME ANTIBACTERIAL AGENTS ON BACTERIA FROM SALIVA (Abstract) : Chlorhexidine is considered to be one of the most effective antiseptics, decreasing dental plaque formation and inhibiting the development of gingivitis. **Material and method** : The aim of the present study was to compare two antimicrobial rinsing solutions on saliva from 49 volunteer patients, randomly divided into three groups : Group A (n=16), in which each participant used NaF 0.05% for mouthrinsing twice a day, Group B (n=17), in which the patients used Chlorhexidine digluconat 0.2% for mouthrinsing twice a day and Group C, which was used as a control. Microbiological analysis of saliva was done by "Checkerboard DNA-DNA Hybridization" method for ten bacterial species. **Results** : The SPSS 10.1 for Windows statistical software (SPSS Inc 2000) was used for data management and statistical tests. The chlorhexidine significantly reduced the salivary levels of mutans streptococci ($p < 0.0001$) and lactobacilli ($p < 0.05$) while the Na F solution did not. The results of this study show the efficiency of mouthrinses with chlorhexidine in reduction of cariogenic species. The chlorhexidine solution is very efficient in reduction of bacteria from saliva and the NaF solution in prophylactic concentration does not have influence on it. **Key words** : CHLORHEXIDINE, SALIVA, ANTIBACTERIAL AGENTS, MOUTHRINSE

Medicina stomatologică utilizează clorhexidina de mai bine de 30 de ani. Clorhexidina este recunoscută ca fiind agentul cel mai eficient folosit în controlul chimic al plăcii bacteriene. Clorhexidina este o biguanidă cationică cu un spectru larg antibacterian, cu toxicitate mică şi cu mare afinitate pentru mucoase. Spectrul antibacterian acoperit de clorhexidină cuprinde atât bacterii gram pozitive cât şi gram negative. La un pH fiziologic, clorhexidina se poate lega şi de alte substraturi de la nivelul cavităţii orale, cum ar fi dinţii, mucoasa bucală, pelicula dobândită şi saliva. După o clătire cu clorhexidină, saliva manifestă activitate antibacteriană timp de peste 5 ore, în timp ce persistenţa acesteia la nivelul cavităţii bucale determină micşorarea drastică a numărului de bacterii pe o perioadă de aproximativ 12 ore.

Clătirea cavităţii bucale cu 10 mL de clorhexidină timp de 1 minut, de două ori pe zi previne complet formarea plăcii bacteriene şi gingivitei (1). Brecx a arătat în 1989 că 3 clătiri pe zi cu 0,12% determină efectul maxim, asemănător cu cel obţinut prin periaj mecanic (2). Lang conchide că aplicarea zilnică a clorhexidinei, în concentraţie de 0,1% sau 0,2% prin clătire orală, reduce semnificativ formarea plăcii bacteriene şi gingivitei (3). Aceste date au fost agreate şi de Fine, care a arătat că o cantitate de 15 mL de clorhexidină pentru clătire orală a fost superioară clătirii cu o substanţă placebo (4).

Scopul prezentului studiu a fost de a investiga eficienţa unor substanţe antiplacă asupra statusului microbiologic al salivei.

MATERIAL ŞI METODE

Lotul de pacienţi

La acest studiu au participat voluntar 49 de pacienţi, 24 (48,98%) femei şi 25 (51,02%) bărbaţi cu vârsta cuprinsă între 19-36 ani. Toţi pacienţii sunt sănătoşi şi nu se află sub nici un tratament medicamentos.

Soluţiile de clătire

- soluţie NaF 0,05% ;
- soluţie de digluconat de clorhexidină 0,2% ;
- apă distilată (control negativ).

Examenul clinic şi profilaxia odonto-parodontală

Înaintea perioadei experimentale, toţi pacienţii au fost examinaţi clinic şi trataţi din punct de vedere odonto-parodontal, după efectuarea profilaxiei profesionale. După două săptămâni s-au reluat procedurile de profilaxie profesională pentru standardizarea statusului clinic al pacienţilor.

Parametrii clinici

Examenul clinic a fost făcut de un singur clinician, cu înregistrarea indicilor CAO, CAOS (în funcţie de criteriile OMS).

Recoltarea salivei

Saliva stimulată cu parafină a fost colectată înaintea examenului clinic în eprubete sterile, timp de 5 min. Pacienţilor li s-a cerut să nu mănînce o oră inainte de colectare. Rata fluxului salivar a fost evaluată cantitativ/unitate de timp (mL/min). Capacitatea tampon a salivei a fost determinată imediat folosind o metodă colorimetrică comercială, Dentobuff-strip (Orion Diagnostica). Recoltarea salivei s-a făcut pentru fiecare pacient la începutul şi sfârşitul fiecărei perioade a experimentului. Câte 1mL de salivă de la fiecare pacient a fost transferat în tuburi Eppendorf sterile care conţin 100 mL soluţie tampon TE (10 mM Tris-HCl, 1,0 mM EDTA, pH 7,6). După vibrarea energică a tubului se adaugă 100 mL de soluţie de NAOH, 0.5M. Tuburile astfel pregătite au fost analizate din punct de vedere microbiologic prin metoda "Checkerboard" DNA-DNA hybridization" (5) pentru următoarele 10 specii bacteriene din colecţia americană de culturi (ATCC): *Streptococcus mutans* ATCC 2517 *Streptococcus gordonii* ATCC 9811, *Streptococcus sobrinus* ATCC 33478, *Streptococcus oralis* ATCC 35037, *Streptococcus mitis* ATCC 33399, *Streptococcus sanguis* ATCC 10566, *Lactobacillus fermentum* ATCC 11976, *Lactobacillus plantarium* ATCC 4940, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4646, *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 95995.

Chestionare

Pe parcursul studiului, pacienţii au primit chestionare la care au răspuns la întrebări referitoare la efectul de igienizare al cavităţii orale, gust, colorarea dinţilor după utilizarea soluţiilor de clătire.

Designul studiului şi protocolul de clătire

Studiul a fost conceput pe principil "dublu-orb", astfel încât nici examinatorul, nici pacienţii nu ştiau din ce grupă fac parte. Pacienţii au fost împărţiţi aleator în trei grupuri: grupul I (16 pacienţi) au clătit cu soluţie de NaF; grupul II (17 pacienţi) a folosit soluţie de digluconat de clorhexidină; grupul III (16 pacienţi) a folosit pentru clătire soluţie placebo. Studiul a durat şapte zile, timp în care pacienţii s-au abţinut de la igiena oro-dentară obişnuită (paste de dinţi, fir de mătase) neutilizând decât clătirea cavităţii bucale cu 10 mL din soluţia indicată, timp de 1 minut, de două ori pe zi. Experimentul s-a reluat de trei ori, cu pauză de patru săptămâni între perioadele studiului. Pacienţii au primit câte o sticlă cu soluţia de clătire, iar restul soluţiei a fost returnată, astfel încât a putut fi măsurată cantitatea de soluţie folosită. Înainte şi după fiecare perioadă de clătire s-a făcut un examen clinic. După fiecare săptămână de experiment s-a facut profilaxia profesională fiecărui pacient.

ANALIZA STATISTICĂ A DATELOR

Pentru toate variabilele s-au calculat media, deviaţia standard şi frecvenţa. Parametrii clinici ai pacienţilor din cele trei grupuri de studiu au fost comparaţi prin utilizare "Student's t test". Ca o variabilă calitativă, (diferenţele în distribuţia numărului de microorganisme dintre grupuri) am utilizat testul independent χ^2.

Corelaţia dintre prevalenţa cariei dentare şi parametrii salivei a fost făcută cu ajutorul coeficientului de corelare Pearson. Interrelaţia dintre prevalenţa cariei şi parametrii microbiologici ai salivei a fost analizată cu testul ANOVA. Analiza chestionarelor s-a facut cu testul χ^2. Analiza statistică a datelor s-a făcut cu ajutorul programului SPSS 10.1 pentru Windows.

REZULTATE

Rezultatele studiului au la bază analiza datelor a 49 de pacienţi.

Parametrii clinici înregistraţi la începutul studiului, precum şi datele rezultate din analiza studiului microbiologic inţial al salivei sunt prezentate în tabelul I, iar analiza microbiologică a salivei la începutul studiului în fig. 1 şi fig. 2.

Studiul microbiologic al salivei

Speciile de streptococi

Pentru grupul de pacienţi care au făcut clătiri orale cu soluţie de NaF 0,05% valorile medii ale grupului de streptococi analizaţi sunt: 2,76 (*S. mutans*), 2,39 (*S. sobrinus*), 2,02 (*S. gordonii*), 1,05 (*S. sanguis*), 1,37 (*S. mitis*), 1,33 (*S. oralis*). Conform aprecierii numărului de microorganisme prin metoda "Checkerboard" DNA-DNA hybridization, toate aceste valori reprezintă mai puţin de 10^6 bacterii (0, nedetectare; 1, $< 10^5$ bacterii; 2 » 10^5; bacterii, $10^5 < 3 < 10^6$; 4 » 10^6 bacterii, $5 > 10^6$).

Pentru grupul de pacienţi care au făcut clătiri orale cu soluţie de clorhexidină valorile medii ale grupului de streptococi analizaţi sunt: 1,80 (*S. mutans*), 1,12 (*S. sobrinus*), 1,56 (*S. gordonii*), 0,69 (*S. sanguis*), 0,83 (*S. mitis*), 0,57 (*S. oralis*). Aceşti pacienţi au valorile cele mai mici ale spe-

TABELUL I

Valorile medii (SD) ale parametrilor clinici şi microbiologici la începutul studiului

Parametrii clinici	Media (SD)
Nr. pacienţilor	49
NaF	16
Clorhexidină	17
Placebo	16
Vârstă	25 (1)
Nr. suprafeţelor cariate (CS)	0,9 (1,7)
CAOS	14,2 (10,7)
Nr. pacienţilor cu nr. mare ($\geq 10^6$) de bacterii în salivă	
S. mutans	4
S. gordonii	6
S. sobrinus	5
S. oralis	10
S. mitis	14
S. sanguis	4
Lactobacillus fermentum	1
Lactobacillus plantarium	2
Lactobacillus acidophilus	1
Lactobacillus rhamnosus	2

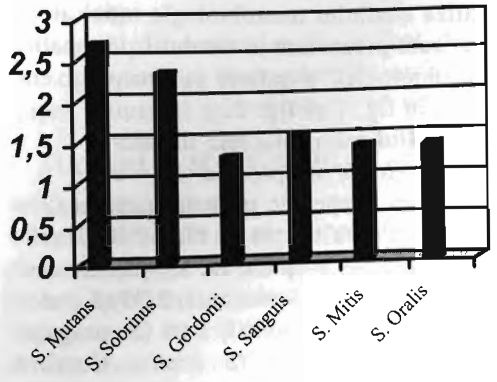


Fig. 1. Valorile medii ale speciilor de streptococi din saliva la inceputul studiului

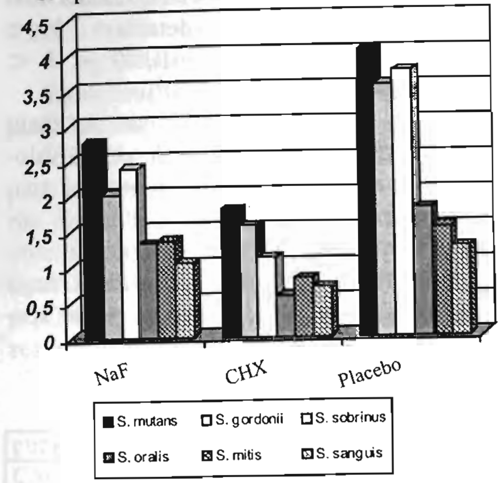


Fig. 3. Valorile medii ale speciilor de streptococi la sfârşitul studiului

ciilor de streptococi analizate ($< 10^5$) în comparaţie cu celelalte două loturi de pacienţi.

Pentru grupul de pacienţi care au făcut clătiri orale cu soluţie placebo valorile medii ale grupului de streptococi analizaţi sunt: 4,03 (*S. mutans*), 3,75 (*S. sobrinus*), 2,56 (*S. gordonii*), 1,25 (*S. sanguis*), 1,53 (*S. mitis*), 1,80 (*S. oralis*). Pacienţii acestui grup prezintă valori ridicate ale streptococilor cariogeni (*S. mutans* şi *S. sobrinus*), deci riscul cariei dentare este ridicat (fig. 3).

Speciile de lactobacili

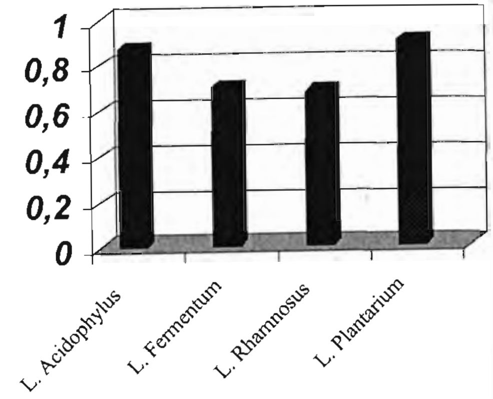


Fig. 2. Valorile medii ale speciilor de lactobacili din saliva la inceputul studiului

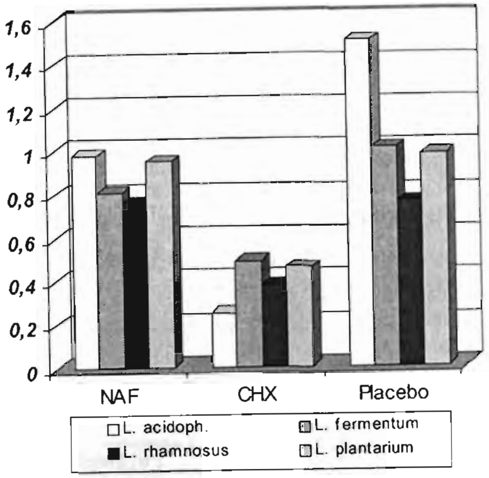


Fig. 4. Valorile medii ale speciilor de lactobacili la sfârşitul studiului

Valorile medii finale ale speciilor de lactobacili analizate în salivă pentru cele trei grupuri de studiu sunt prezentate în fig. 4.

Pentru grupul de pacienţi care au făcut clătiri orale cu soluţie de NaF, valorile medii ale speciilor de lactobacili analizate în salivă sunt: 0,98 (*L. acidophylus*), 0,81 (*L. fermentum*), 0,76 (*L. plantarium*), 0,72 (*L. rhamnosus*). Conform codificării numărului de micro-organisme prin metoda hibridizării ADN valoarea 1 reprezintă $< 10^5$ bacterii. Toate valorile medii ale acestui grup de pacienţi sunt mult mai mici în comparaţie cu grupul placebo.

Pentru grupul de pacienţi care au făcut clătiri orale cu soluţie de clorhexidină, valorile medii ale speciilor de lactobacili analizate în salivă sunt: 0,25 (*Lactobacillus acidophylus*), 0,49 (*Lactobacillus fermentum*), 0,38 (*Lactobacillus plantarium*), 0,46 (*Lactobacillus rhamnosus*). Acest grup de pacienţi are valorile cele mai mici în comparaţie cu celelalte două grupuri.

Pentru grupul de pacienţi care au făcut clătiri orale cu soluţie placebo, valorile medii ale speciilor de lactobacili analizate în salivă sunt: 1,51 (*Lactobacillus acidophylus*), 1,01 (*Lactobacillus fermentum*), 0,76 (*Lactobacillus plantarium*), 0,98 (*Lactobacillus rhamnosus*).

Acest grup de pacienţi are valorile cele mai mari, riscul carios fiind mai mare în comparaţie cu celelalte două grupuri, dar numărul de lactobacili în salivă nu depăşeşte 10^5 bacterii pentru fiecare specie luată în parte.

Rezultatele chestionarelor

Pacienţii consideră că cel mai bun efect de igienăzare a cavităţii bucale l-a avut digluconatul de clorhexidină, urmat de soluţia de NaF. În acest sens a existat o diferenţă semnificativă din punct de vedere statistic între cele două produse în comparaţie cu soluţia placebo ($p < 0,001$; $p < 0,05$). Nici unul din pacienţii care au făcut clătiri cu soluţie de NaF nu au semnalat alterarea gustului, sau gust neplăcut al soluţiei. Aceeaşi menţiune se poate face pentru cei care au folosit soluţia placebo.

Din totalul pacienţilor (17) care au folosit soluţia de digluconat de clorhexidină 6 (35,4%) au relevat alterarea gustului (gust metalic), dar care a dispărut odată cu întreruperea clătirilor orale.

DISCUŢII

Mecanismele de acţiune ale clorhexidinei sunt complexe şi diferite, în funcţie de concentraţie şi de specia bacteriană asupra căreia acţionează (6,7). În ultimul timp, pentru cercetătorii din domeniu a devenit tot mai clară ideea de a reconsidera interrelaţia gazdă - bacterii - agenţi antiplacă în termeni de substantivitate, penetrabilitate şi selectivitate (8,9).

Scopul acestui studiu a fost de a evalua eficienţa clătirilor orale cu soluţie de digluconal de clorhexidină 0,2% şi NaF 0,05% în absenţa igienei orale asupra numărului de bacterii (10 specii microbiene) din salivă (10,11,12).

Prevalenţa şi nivelul de detecţie al speciilor de streptococi şi lactobacili a fost diferită pe parcursul studiului între cele trei grupuri în salivă. Bacteriile cariogene au fost detectate la nivelul cel mai înalt în salivă la pacienţii care au folosit soluţia placebo. La aceştia am găsit o corelaţie pozitivă, semnificativă din punct de vedere statistic între numărul de microorganisme cariogene şi riscul carios.

Efectul clorhexidinei asupra reducerii numărului de bacterii cariogene a fost demonstrat de numeroşi cercetători în ultimii ani: Clark (13), Emilson (14), Bondestam (15), Bowden (16) etc. Studiul nostru a pus în evidenţă o reducere marcată a numărului de streptococci, la nivelul salivei, dar efectul este mult mai mic asupra speciilor de lactobacili. Clorhexidina este o alternativă excelentă, considerată cel mai eficient agent antibacterian, dar pentru a obţine efecte terapeutice maxime trebuie utilizată întotdeauna în cadrul unui program de control al cariei dentare supervizat de profesioniştii din domeniul stomatologiei. Pentru pacienţii cu activitate carioasă intensă şi cu număr mare de *Streptococcus mutans* în salivă, clorhexidina poate fi folosită împreună cu alte metode de prevenţie. La astfel de pacienţi, cele mai eficiente rezultate s-au obţinut prin folosirea diferitelor concentraţii de clorhexidină, sub forma de lacuri şi geluri, urmate de evaluarea parametrilor microbiologici. De asemenea strategiile terapeutice trebuie să includă pacienţii cu recesiuni gingivale în grupul cu risc pentru apariţia cariilor radiculare şi să ia în considerare folosirea agenţilor antimicrobieni atât pentru remineralizarea leziunilor incipiente, cât şi pentru prevenirea apariţiilor cariilor din această arie.

CONCLUZII

- digluconatul de clorhexidină este cel mai eficient agent antimicrobian;
- clorhexidina determină scăderea drastică a numărului microorganismelor cariogene de la nivelul salivei, în special a speciilor de streptococci şi mai puţin a celor de lactobacilli;
- fluorul, în doză profilactică nu produce schimbări dramatice asupra microorganismelor plăcii bacteriene;
- concentraţia substanţelor antimicrobiene şi frecvenţa aplicării lor trebuie individualizată fiecărui caz clinic.

BIBLIOGRAFIE

1. Addy M. Chorhexidine is it still the gold standard? *Periodontol 2000*; 15 : 55-62.
2. Brecx MC, Liechti T, Winder J, Gher P, Lang NP. Histological and clinical parameters of human gingiva following 3 weeks of chemical (chlorhexidine) control or mechanical plaque control. *J Clin Periodontol* 1989; 16: 150-155.
3. Lang NP, Hotz P, Graf H, Geering AH, Saxer UP, Struzenberger OP, Meckel AH. Effects of supervized chlorhexidine mouthrinses in children. A longitudinal clinical trial. *J Periodont Res* 1982; 17: 101-111.
4. Fine DH. Mouthrinses as adjuncts for plaque and gingivitis management. A status report for the American Journal of Dentistry. *Am J Dent,* 1988; 1: 259-263.
5. Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE. "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. *Biotechnique* 1994; 17: 788-793.
6. Barrett-Bee K, Newboult L, Edwards S. The membrane destabilising action of the antibacterial agent chlorhexidine. FEMS Microbiol Lett 1994, 119 : 249-253.
7. Suci PA, Geesey GG, Tyler BJ. Integration of Raman microscopy, differential interference contrast microscopy, and attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy to investigate chlorhexidine spatial and temporal distribution in *Candida albicans* biofilms. *J Microbiol Methods* 2001; 46 : 193-208.
8. Marsh PD. Antimicrobial strategies in the prevention of dental caries. *Caries Res* 1993; 27 Suppl 1 : 72-76.
9. Marsh PD, Bradshaw DJ. Physiological approaches to the control of oral biofilms. *Adv Dent Res* 1997; 11 (1): 176-185.
10. Geddes DAM, Bowden HW. The effect of 0.2 per cent NaF rinses daily on human plaque acidogenity in situ (Stephan curve) and fluoride content. *Arch Oral Biol* 1982; 27: 765-769.
11. Hamilton IR, Bowden G. Fluoride effects in oral bacteria. In: *Fluoride in dentistry* , Thylstrup A., Fejerskov O. eds., Copenhagen: Munksgaard 1996, 230-247.
12. Mandel ID. Chemotherapeutic agents for controling plaque and gingivitis. *J. Clin. Periodontol* 1998; 15: 488-498.
13. Clark DC, Guest JL. The effectiveness of three different strenght of chlorhexidine mouthrinse. *J Cad Dent Assoc* 1994; 8: 711-714.
14. Emilson CG. Potential efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries. *J Dent Res* 1994; 73 (3): 682-691.
15. Bondestam O, Gahnberg L, Sund ML,Linder L. Effect of chlorhexidine gel treatment on the prevalence of mutans streptococci and lactobacilli in patientd with impaired salivary secretion rate. *Spec Care Dent* 1996; 16 (3): 123-127.
16. Bowden GH. Mutans streptococci caries and chlorhexidine. *J Can Dent Assoc* 1996; 62 (9): 700.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

STUDIU LONGITUDINAL PRIVIND EFICIENŢA TRATAMENTELOR ENDODONTICE CONSERVATOARE PE UN LOT DE DINŢI CU LEZIUNI PERIAPICALE CRONICE

Mihaela Sălceanu , Maria Vataman, T. Hamburda,
Liana Aminov, C.Topoliceanu, R.Vataman
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
Departamentul de Odontologie şi Parodontologie

LONGITUDINAL STUDY REGARDING THE EFFICACY OF CONSERVATIVE ENDODONTIC TREATMENTS IN CHRONIC PERIAPICAL LESIONS (Abstract): Our study aimed to assess the possibilities of healing in periapical lesions following endodontic therapy, using a standardised technique. **Material and methods**: Study group included 34 patients with 15-45 age. 40 teeth with periapical granuloma and periapical difuse osteitis were endodontically treated. All teeth presented radicular obturations with adequate lenght and density consisting of gutaperca points and antiseptic sealer (Endoflas, Sanlor). Optimum coronal sealing was provided through prosthetic restorations or composite resins associated with glassionomer cements. All treated teeth were radiographically monitorised on a 24 months time interval. Periapical Index (PAI) were used for assessment of periapical healing processes. Recorded data were used for statistical analysis in SPSS 16 trial . **Results**: The assessment of periapical status after 24 months showed a complete periapical healing for 42.5% teeth (PAI 1-2), partial periapical healing for 52.5% teeth and 5% endodontic failures. Median values for PAI indices decreased from an initial 4.75 value to 4.30 after 3 months, 3.33 after 12 months and 2.60 after 24 months. Wilcoxon tests confirm significant statistical differences between PAI indices at different time intervals. **Conclusions**: Adequate radicular obturation associated with optimum coronal sealing provide a favourable environment for periapical healing processes, providing success in endodontic therapy of chronic apical periodontitis. Time interval represents a major factor that influences periapical remineralisation degree. **Key words**: PERIAPICAL LESIONS, CORONAL SEALING, CONSERVATIVE ENDODONTICS

Succesul tratamentelor endodontice conservatoare depinde de o serie de factori cum ar fi: eliminarea microorganismelor supravieţuitoare din sistemul canalar radicular , crearea unei sigilări etanşe care să prevină contactul fluidelor tisulare din ţesuturile periapicale cu bacteriile restante localizate în treimea apicală şi blocarea oricărei comunicări dintre cavitatea orală şi ţesuturile periradiculare (1). Un studiu efectuat de Doornbusch et al. (2) estima că majoritatea dinţilor cu leziuni periapicale cronice tratate prin metode de chirurgie endodontică (rezecţia apicală) ar putea beneficia de terapie endodontică conservatoare. Totuşi, trebuie ţinut cont de faptul că tratamente endodontice inadecvate ale dinţilor cu leziuni periapicale cronice conduc la un număr mare de eşecuri şi o prevalenţă crescută a leziunilor periapicale cronice la nivelul dinţilor obturaţi radicular.

SCOPUL STUDIULUI

Studiul a urmărit să evalueze posibilităţile de vindecare prin tratament conservator endodontic a leziunilor periapicale cronice tip granulom periapical şi osteită difuză periapicală, în condiţiile utilizării unei tehnici standardizate, care să asigure condiţii optime de sigilare apicală şi coronară.

MATERIAL ŞI METODĂ

Lotul de pacienţi a cuprins un număr de 34 pacienţi (20 - sex feminin, 14 - sex masculin) cu vârste cuprinse între 15 şi 45 ani (15 - grupa de vârstă 15-29 ani; 19 - grupa de vârstă 30-45 ani). Pentru selecţia cazurilor au fost impuse următoarele criterii:

- dinţi cu distrucţii coronare care permit reconstituiri coronare etanşe;
- dinţi cu prognostic parodontal bun (absenţa mobilităţii grad 2-3, pungi parodontale <4-5 mm);
- pacienţi fără afecţiuni sistemice.

Au fost trataţi endodontic un număr de 40 de dinţi (16 frontali, 10 premolari, 14 molari) cu leziuni periapicale de tip granulom periapical (30 cazuri) şi osteită difuză periapicală (10 cazuri).

Tratamentele endodontice s-au realizat după următorul protocol de lucru:

- debridare mecanică, lărgirea canalelor radiculare la o dimensiune ISO 25 (canale curbe) şi ISO 35-40 (canale drepte);
- irigaţii canalare cu EDTA 17% şi NaOCl 2,5%;
- pansamente antiseptice cu Rockle's;
- pansamente medicamentoase cu pasta de hidroxid de calciu (2-4 săptămâni);
- obturaţie radiculară definitivă prin tehnica condensării laterale la rece şi sigilant Endoflas (Sanlor, Columbia);
- restaurare coronară cu bază din ciment glassionomer (Fuji II LC) asociat cu refacere morfofuncţională coronară din răşini compozite sau coroană de înveliş.

Au fost efectuate radiografii retroalveolare iniţial (anterior începerii tratamentelor endodontice), la un interval de 3 luni şi la intervale de 12 , respectiv 24 luni de la finalizarea tratamentelor endodontice. Pentru a permite o evaluare obiectivă a gradului de afectare periapicală a fost utilizat sistemul Periapical Index, propus de Ørstavik (3), pe o scală care include situaţiile clinice de la ţesut osos periapical sănătos (indici PAI 1-2), parodontită apicală cronică incipientă (indice PAI 3), extinsă (indice PAI 4) şi severă (indice PAI 5). Pe baza aspectelor radiografice a fost pus diagnosticul de granulom periapical sau osteită difuză periapicală şi a fost stabilită valoarea indicilor PAI. In cazul pluriradicularilor, valoarea indicelui este dată de rădăcina cu scorul cel mai mare. Datele au fost înregistrate în tabele, pe baza cărora au fost efectuate analize statistice de tip Wilcoxon prin intermediul programului SPSS 16 *trial*.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Rezultatele obţinute în studiul nostru au demonstrat posibilitatea vindecării leziunilor cronice periapicale prin intermediul tratamentelor endodontice conservatoare în cadrul unui interval de timp de 24 de luni (fig. 1.a, 1.b, 2.a, 2.b)

În lotul de dinţi luaţi în studiu indicii PAI la momentul iniţial au fost PAI 4 (11 dinţi) şi PAI 5 (29 dinţi). Valoarea medie a indicilor PAI înaintea începerii terapiei endodontice a fost de 4,75. La un interval de 3 luni, am constatat reducerea mediei indicilor PAI, ca urmare a proceselor de vindecare periapicală, la valoarea 4,3 (70% indici PAI 4, 30% indici PAI 5). Analiza radiografiilor de control efectuate la pacienţii din lotul de studiu după un interval de 12 luni a stabilit o valoare medie a indicilor PAI de 3,33. Am constatat un vindecare periapicală completă în 15% din cazurile studiate şi o reducere a leziunilor periapicale la indici PAI 3 în 27,5% din cazuri. Deasemenea am constatat absenţa proceselor de vindecare periapicală pentru doi dinţi luaţi în studiu, aceştia fiind consideraţi dinţi nefuncţionali, ca urmare a asocierii semnelor radiografice cu prezenţa unei fistule reacutizate. La finalul perioadei de monitorizare, după un interval de 24 de luni, 42,5% din dinţi au prezentat vindecare periapicală completă (indici PAI 1-2), iar un procent de 52,5% au fost consideraţi dinţi cu leziuni periapicale cronice în curs de vindecare, ca urmare a reducerii valorilor indicilor PAI în raport cu statusul iniţial (fig. 3.).

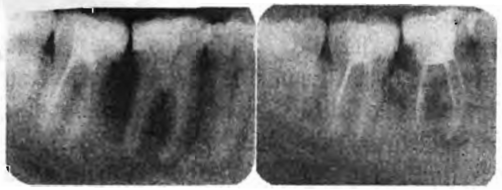

a b

Fig. 1. Pacient C.A., 4.7. a - aspect radiografic iniţial; b- aspect radiografic la 24 de luni

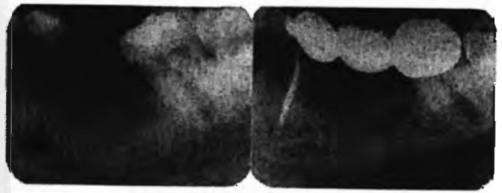

a b

Fig. 2. Pacient B.C., 4.5. a - aspect radiografic iniţial; b. - aspect radiografic la 24 de luni

Rezultatele prezentate demonstrează reducerea mediei indicilor PAI de la 4,75 (momentul iniţial) la 4,30 după 3 luni, 3,33 după 12 luni şi 2,60 după 2 ani (fig.4). Testele Wilcoxon demonstrează veridicitatea ipotezei de cercetare, conform căreia există diferenţe semnificative statistic între indicii PAI la intervale diferite de timp (tab. I, II, III). Există o diferenţă semnificativă din punct de vedere statistic între indicii PAI măsuraţi la momentul iniţial, la un interval de 3 luni (Wilcoxon: N = 40, z = -4,243, two-tailed, p = 0,0001), 12 luni (Wilcoxon: N=40, z = -5,307, two-tailed, p = 0,0001), 24 luni (Wilcoxon: N=40, z = -5,282, two-tailed, p = 0,0001).

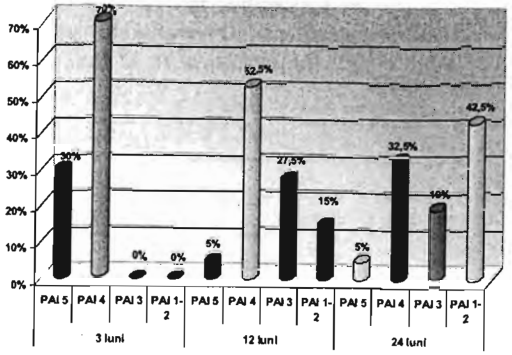


Fig. 3. Distribuţie procentuală a indicilor PAI la intervale de 3 luni, 12 luni, respectiv 24 luni

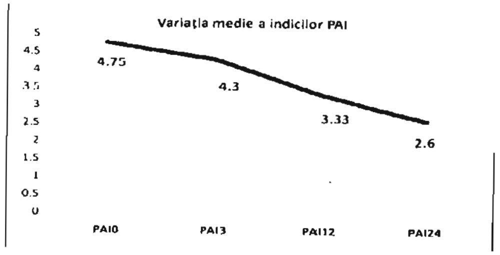


Fig. 4. Evoluţia mediei indicilor PAI la intervale de 3 luni, 12 luni şi 24 luni

Datele din literatura de specialitate pentru studii cu durata de 12-24 luni, prezintă valori ale procentelor de vindecare periapicală completă, situate între 46% şi 63% (4,5). Unii autori consideră că pentru dinţi cu procese de vindecare periapicală vizibile radiografic după un interval de 12 luni, monitorizarea ulterioară nu este absolut necesară (6,7). Terapia endodontică conservatoare în leziuni periapicale extinse este susţinută de rezultatele unor studii recente

TABELUL I

Nivelul de semnificaţie al testelor statistice pentru statusul periapical la 3 luni

Test Statistics[b]

	PAI3 - PAI0
Z	-4.243[a]
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000

a. Based on positive ranks

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

TABELUL II
Nivelul de semnificaţie al testelor statistice pentru statusul periapical la 12 luni

Test Statistics[b]

	PAI12 - PAI0
Z	-5.307[a]
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000

a. Based on positive ranks
b. Wilcoxon Signed Ranks Test

TABELUL III
Nivelul de semnificaţie al testelor statistice pentru statusul periapical la 24 luni

Test Statistics[b]

	PAI24 - PAI0
Z	-5.282[a]
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000

a. Based on positive ranks
b. Wilcoxon Signed Ranks Test

(8,9,10). Rezultatele studiului nostru confirmă studiul prezentat de Kirkevang L. şi Horsted Bindslev P., care susţine potenţialul terapiei endodontice conservatoare realizate de specialişti (11).

CONCLUZII

Utilizarea unei tehnici adecvate de obturare radiculară care să asigure o perfectă etanşeitate a spaţiului endodontic prin asocierea cu un sigilant cu proprietăţi antiseptice şi de stimulare a proceselor de vindecare periapicală, reprezintă o garanţie a succesului tratamentelor endodontice conservatoare în leziunile periapicale cronice. Factorul timp reprezintă un parametru important de care depinde gradul de remineralizare a ariilor osteitice periapicale.

BIBLIOGRAFIE

1. Sundqvist G, Figdor D. Endodontic treatment of apical periodontitis. In: Ørstavik D, Pitt Ford TR editors. *Essential Endodontology*. Blackwell Science Ltd, 1998, 242-269.
2. Doornbusch H, Broersma L, Boering G, Wesselink PR. Radiographic evaluation of cases referred for surgical endodontics. *Internat Endodontic J* 2002; 35: 472-477.
3. Ørstavik D. Reliability of the periapical index scoring system. *Scand J Dent Res* 1988; 96: 108-111.
4. Murphy WK, Kaugars GE, Colett WK, Dodds RN. Healing of periapical radiolucencies after nonsurgical therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 71: 620-624.
5. Friedman S, Lost C, Zarrabian M, Trope M. Evaluation of success and failure after endodontic therapy using a glass ionomer cement sealer. *J Endodontics* 1995; 21: 384-390.
6. Friedman S. Treatment outcome and prognosis of endodontic therapy. In: Ørstavik D, Pitt Ford TR editors. *Essential Endodontology*. Blackwell Science Ltd, 1998, 367-401.
7. Ørstavik D. Time-course and risk analyses of the development and healing of chronic apical periodontitis in man. *Internat Endodontic J* 1996; 29 (3): 150-155.
8. Broon NJ, Bortoluzzi EA, Bramante CM. Repair of large periapical radiolucent lesions of endodontic origin without surgical treatment. *Aust Endod J* 2007; 33 (1): 36-41.
9. Saatchi M. Healing of large periapical lesion: a non-surgical endodontic treatment approach. *Aust Endod J* 2007; 33 (3): 136-140.
10. Soares JA, de Carvalho FB, Pappen FG et al. Conservative treatment of patients with periapical lesions associated with extraoral sinus tracts. *Aust Endod J* 2007; 33 (3): 131-135.
11. Kirkevang L-L, Horsted-Binslev P. Technical aspects of treatment in relation to treatment outcome. *Endodontic Topics* 2002; 2: 89-102.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ DENTARĂ

ARTICOLE ORIGINALE

ACTUALITĂŢI ÎN REABILITAREA ORALĂ COMPLEXĂ CU AJUTORUL IMPLANTELOR ORALE OSTEOINTEGRATE

Cristiana Balog, Mihaela Băciuţ, G. Băciuţ
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Iuliu Haţieganu" Cluj-Napoca
Facultatea de Medicină Dentară
Catedra de Chirurgie Cranio-Maxilofacială

ACTUALITYS IN COMPLEX ORAL REABILITATION WITH ORAL OSSEOINTEGRATED IMPLANTS (Abstract): Dentists and patients become increasingly aware of the complex and predictible results offered by implant-supported dentures. These alternatives fulfill the demands of modern dentistry to rehabilitate the oral health condition according to the highest standards. A deficient residual crest represents a great challenge for the healing and osseointegration of the implants. Dental implants have an essential effect on stopping bone atrophy in the edentulous crest and preserving its condition. Function and esthetics and the patients comfort can be rehabilitated within normal limits. The prosthetic reconstruction based on osseointegration implants has better long-term prognosis if the therapeutic option is judiciously selected. The risk of relative movements at the bone-implant interface decreases according to the difference in value between the elasticity module of the implant and the bone. Prosthetic reconstruction based on implants has a better long-term prognosis if the therapeutic option is judiciously selected from all possibilities according to the osteointegration of an adequate number of implants. **Key words**: OSSEOINTEGRATION, BONE SUBSTITUTES, SUBANTRAL AUGMENTATION

Implantologia orală completează astăzi cu rezultate bune şi durabile în timp gama de tratamente în medicina dentară şi chirurgia orală şi maxilofacială, în ceea ce priveşte rezolvarea edentaţiilor unidentare, a edentaţiilor extinse care pot fi rezolvate numai adjunct, sau a altor modificări fizionomice la nivel craniofacial. Etiologia pierderii dinţilor poate fi urmarea unor leziuni carioase complicate, boală parodontală complicată, traumatică, aplazia mugurilor dentari, sau chiar iatrogenii. Provocarea în implantologie vine nu numai din rezolvările la standarde superioare a tuturor funcţiilor aparatului dentomaxilar prin înlocuirea dinţilor absenţi dar şi din restaurările complexe în cazul atrofiei severe, defectelor osoase şi de părţi moi posttraumatice sau după rezecţii de tumori extinse.

Datorită rezultatelor obţinute prin îmbunătăţirea fenomenului de osteointegrare, implantele endoosoase devin din ce în ce mai frecvent folosite în reabilitarea orală complexă.

Implantologia orală oferă posibilitatea transformării edentaţiilor terminale unilaterale sau termino-terminale în edentaţii intercalate precum şi terapia edentaţiilor parţiale întinse sau totale cu punţi mobilizabile sau alte suprastructuri pe implante.

Reabilitarea orală a pacienţilor edentaţi cu ajutorul implantelor impune o cunoaştere exactă a stării morfofuncţionale în care se prezintă pacientul la medic şi apoi conceperea unui plan de tratament care să fie bine etapizat până la realizarea lucrării finale fiziologice definitive autoechilibrate.

MATERIAL ŞI METODĂ

Din cazuistica Clinicii noastre am realizat un studiu statistic retrospectiv pe o perioadă de 6 luni în anul 2006 privind reconstrucţia protetică pe implante.

Am luat în studiu un lot de 41 pacienţi din care 48% sunt bărbaţi iar 53% sunt femei. Deşi diferenţa nu este mare putem observa că femeile se adaptează mai uşor la acest tip de tratament decât bărbaţii. Media de vârstă în lotul ales este de 39 de ani.

Au fost selectaţi pacienţii cu diferite tipuri de edentaţii şi s-a evaluat valoarea calitativă şi cantitativă a crestei alveolare, valoarea parodontală a dinţilor care mărginesc spaţiul edentat, afecţiunile generale ale pacienţilor precum şi obiceiurile vicioase.

Celor 41 de pacienţi din lot li s-au aplicat în total un număr de 112 implante din care la maxilar au fost 75 ceea ce reprezintă 66% şi la mandibulă 37, ceea ce reprezintă 33 % din numărul de implante.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Acest domeniu al Implantologiei nu trebuie în nici un caz subapreciat ca şi grad de dificultate, de aceea am considerat util să aducem în discuţie relaţia strânsă a acesteia cu noţiuni de fizică mecanică respectiv biomecanică pentru a avea succes. Pentru înţelegerea fenomenului biomecanic la nivelul interfeţei os-implant, ecuaţia lui Hooke reprezintă veriga de legătură între materialul inert al implantului şi ţesutul osos vital. (1, 2, 3)

Legea lui Hooke - Legătura între organic şi anorganic

$P = F / S = ME \times \Delta l / l_0$

p - presiune, stres la interfaţa os-implant
F - forţa de masticaţie
S - suprafaţa implantelor
ME - modul de elasticitate
$\Delta l / l_0$ -deformaţia specifică

Stresul la interfaţa os implant este direct proporţional cu forţa de masticaţie şi invers proporţional cu suprafaţa implantului. De asemenea stresul este proporţional cu modulul de elasticitate şi deformaţia specifică care sunt nişte constante.

Deci după criterii pur biomecanice asocierea titan-os este total nefavorabilă. Această discrepanţă biomecanică presupune ca osul să compenseze deficitul mecanic printr-un metabolism intens. Totuşi pentru o osteointegrare stabilă şi perenă putem alege pentru reducerea stresului local un implant cu o suprafaţă cât mai mare.

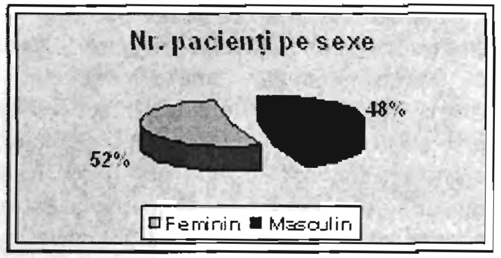


Fig. 1. Repartizarea pacienţilor pe sexe

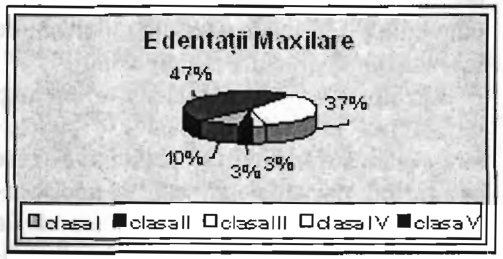


Fig. 2. Repartizarea implantelor la maxilar

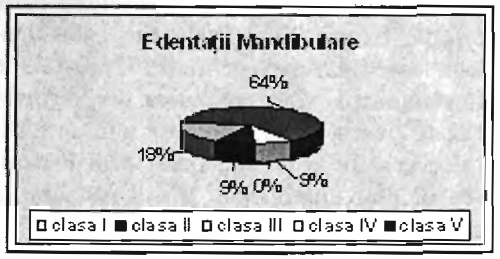


Fig. 3. Repartizarea implantelor la mandibulă

Fiziologic osul alveolar suportă următoarele modificări elementare: apoziţie osoasă şi resorbţie osoasă. Prima este indusă

predominant prin solicitare mecanică iar cea de-a II-a este influenţată predominant metabolic. (5)

	ME GPa	% Delta l/lo
Ti	110	15-24
Os	10	1-2

Fig. 4. Prezentare comparativă a constantelor pentru titan şi os

Solicitare mecanica	Rezultat
minimă	A < R
fiziologică	A = R
suprasolicitare	A > R
patologica	formare os fibros

Fig. 5. Comportarea osului la diferite solicitări mecanice (A - apoziţie osoasă, R - resorbţie osoasă)

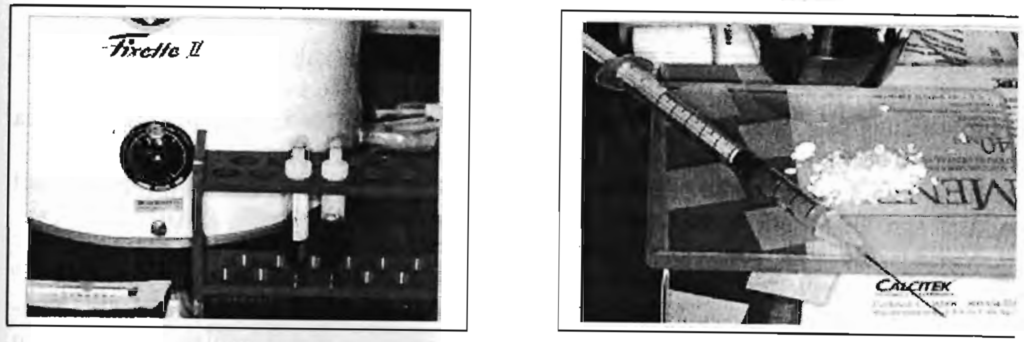


Fig. 6. Obţinerea prin centrifugare a preparatului PRP

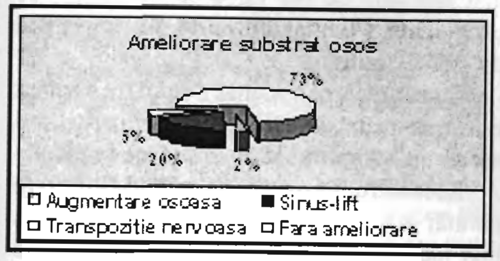


Fig. 7. Variante de ameliorare a substratului osos

Deci pentru o osteointegrare de calitate este necesar ca în perioada de vindecare, imediat după aplicarea implantelor să nu se exercite nici o presiune la nivelul lor pentru a evita apariţia de os fibros.

Revenind la compensarea metabolică intensă am cercetat şi am observat capacitatea de integrare a implantelor în condiţiile utilizării preparatului PRP Platelet Rich Plasma, Plasmă Bogată în Plachete obţinut prin centrifugarea sângelui proaspăt recoltat preoperator. Acesta se combină cu materiale aloplastice şi se aplică periimplantar favorizând o mai bună osteointegrare.

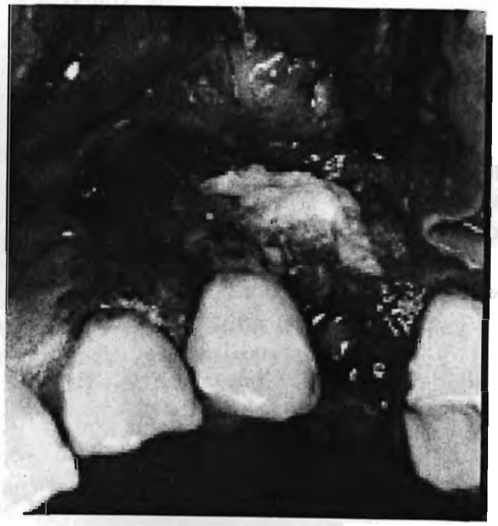


Fig. 8. Augmentare osoasă

Toate acestea trebuie să constituie temelia unei reconstituiri protetice pe implante fără de care nu putem trece la următoarele etape.

Pentru ameliorarea substratului osos în condiţii nefavorabile am apelat la augmentare osoasă, sinus-lift sau transpoziţie de

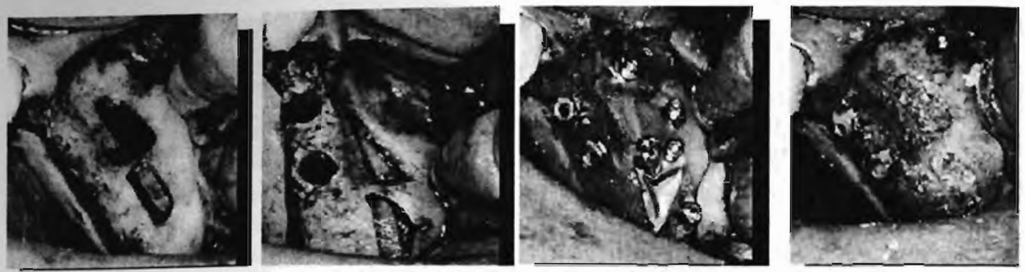


Fig. 9. Etape ale intervenţiei chirurgicale de sinus-lift

nerv alveolar inferior.

În situaţiile defavoranile, în care valoarea substratului osos este necorespunzătoare din punct de vedere cantitativ pentru aplicarea implantelor dentare, se poate apela la mijloace speciale de ameliorare a edentaţiei.

Pentru acest scop am folosit ceramo-hidroxiapatita ca material de augmentaţie poros şi neresorbabil. Substanţa de la care se pleacă este un penta-calciu-hidroxi-tri-fosfat care printr-un proces de sintetizare special este transformată într-un material numit hidroxiapatita. Prin compoziţia chimică, structura cristalină a hidroxiapatitei corespunde mineralului osos natural. Proprietatea dominantă a hidroxiapatitei este iniţierea şi promovarea neoformării osoase, denumită osteotropie.

Pentru altă metodă de ameliorare a substratului osos (sinus-liftul) se parcurg în mod particular şi următoarele etape:

- realizarea voleturilor osoase corespunzătoare zonei de implantare,
- obţinerea orificiilor pentru aplicarea implantelor,
- augmentare osoasă sub protecţia unei membrane de titan. (4)

CONCLUZII

Riscul de apariţie a unei mişcări relative la interfaţa dintre implant şi os, este cu atât mai mic cu cât valoarea modulului de elasticitate a implantului este mai apropiată de cea a osului.

Cu cât încărcarea unui sistem de implant este mai mare cu atât variaţia alungirii are efecte nefavorabile la interfaţa os-implant.

Reconstrucţia protetică pe implante este cu atât mai durabilă în timp cu cât s-a ales mai judicios din variantele teoretic posibile în raport cu osteointegrarea unui număr adecvat de implante.

BIBLIOGRAFIE

1. Albrektsson R. The response of bone to titanium implants. *Crit Rev Biocompat* 1984; 1: 53-56.
2. Becker W, Becker B, Handelsman M, Celleti R. Bone formation at dehisced dental implants with implant augmentation material: a pilot study in dogs. *Int J Periodont Rest Dent* 1990; 5: 93-101.
3. Parr G, Gardner KL, Toth RW. Titanium: the mistery metal for implants dentistry, dental material aspects. *J Prostheses Dent* 1985; 54: 410-415.
4. Tatum OH. *Maxillary sinus elevation and subantral augmentation*- Lecture - Alabama implant study group. Birmingham, Alabama, May 1997, 70-85.
5. Werbitt MJ. Das Sofortimplantat: Knochenerhaltung und Knochenregeneration. *Int J Parodontol Rest Zahnheilkunde* 1992; 12: 195-203.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

MEDICINĂ DENTARĂ **ARTICOLE ORIGINALE**

INFLUENŢA EXPANSIUNII HIGROSCOPICE ASUPRA RESTAURĂRILOR REALIZATE CU UN COMPOZIT NANOHIBRID

Gianina Iovan[1], I. Dănilă[2], M. Caba[3], Claudiu Topoliceanu[1], Angela Ghiorghe[1], Sorin Andrian[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
1 Disciplina de Cariologie şi Odontoterapie restauratoare
2 Disciplina de Dentistică preventivă
3 Cabinet individual medico-dentar Bucureşti

THE INFLUENCE OF HYGROSCOPIC EXPANSION ON NANOHYBRID COMPOSITE RESTORATIONS (Abstract): Hygroscopic expansion of resin materials is a common phenomena due to water adsorption into the resin matrix. This expansion is dependent upon the chemical structure of the material. Water sorption of resin dental material may contribute to stress release immediately after polymerization shrinkage has occurred. The aim of this study was to evaluate the influence of water storage on nanohybrid composite by assessment of marginal enamel sealing of restorations. **Material and method**: 30 human teeth extracted for periodontal or orthodontic reasons were used in these study. Cavities were prepared and restored using a nanohybrid composite (Ceramix Mono, Dentsply DeTrey) and a total-etch adhesive system (Prime&Bond NT, Dentsply DeTrey). The teeth were then randomly divided in three groups which were stored for various times in deionized water (one hour, 24 hours and 7 days). After the storage period, the teeth were immersed in methylen blue 1% for 24 h. Then specimens were axially cut and the dye penetration within the occlusal enamel interface was evaluated using optic microscope. **Results**: Kruskal-Wallis test showed significant differences of dye penetration between the long-term hydrated groups and the group hydrated for only one hour ($p<0.05$). The mean value of dye penetration decreased from 0.04 mm to 0.1 mm after water storage for both 24 hours and 7 days. However, good sealing in enamel margins of restorations was observed even without hydration. **Conclusion**: Our results confirm that nanohybrid composites used with total etch adhesives systems have good ability to seal the enamel margins and water sorption can improve this sealing. **Key words**: HYGROSCOPIC EXPANSION, NANOHYBRID COMPOSITE, MARGINAL LEAKAGE

Adsorbţia de apă reprezintă un fenomen caracteristic tuturor materialelor bazate pe răşini. În cazul compozitelor folosite în medicina dentară, acest fenomen poate avea efecte contradictorii asupra sigilării marginale. Pe de o parte, expasiunea higroscopică eliberează stresul secundar contracţiei de polimerizare şi reduce tensiunea din pereţii dentari de suport şi hiatusul marginal, dacă acesta s-a produs secundar prizei materialului. Pe de altă parte, adsorbţia de apă poate avea şi efecte nefavorabile, intensificând fenomenele de coroziune şi dizolvare a materialului. Structura şi compoziţia materialului influenţează semnificativ amploarea ca şi evoluţia în timp a acestor fenomene. Efectele adsorbţiei de apă au fost demonstrate pentru cimenturile ionomere de sticlă modificate cu răşină, pentru compozitele hibride şi microfine ca şi pentru compomeri. Numeroase studii au ajuns la concluzia că expansiunea higroscopică poate compensa parţial sau total contracţia de priză (1) ameliorând într-un timp relativ scurt sigilarea marginală (2,3, 4). În schimb, puţine studii au evaluat comportamentul compozitelor nanohibride, recent introduse în practică. Structura acestor materiale caracterizată de dispersia uniformă a particulelor minerale de dimensiuni nanometrice ar putea fi mai puţin susceptibilă la difuzia şi adsorbţa apei. Ameliorarea structurală a acestor materiale nu a determinat diminuarea semnificativă a contracţiei de polimerizare. Compensarea efectelor acestei contracţii prin expansiune higrosopică rămâne la fel de importantă ca şi în cazul compozitelor tradiţionale.

Acest studiu a urmărit evaluarea influenţei stocării în mediu apos asupra percolării la nivelul marginilor de smalţ în cazul unui compozit nanohibrid aplicat cu un sistem adeziv bazat pe gravare totală.

MATERIAL ŞI METODĂ

S-au utilizat 30 dinţi integri proaspăt extraşi din motive ortodontice sau parodontale. Aceştia au fost detartraţi şi curăţaţi prin periaj profesional şi stocaţi într-o soluţie de Cloramină T 0,5%, până în momentul utilizării, după care au fost spălaţi abundent cu apă distilată. S-au realizat cavităţi de aproximativ 3 mm lăţime şi 2 mm profunzime cu ajutorul pietrelor diamantate cilindrice, la turaţii mari sub irigare continuă cu spray de apă. Cavităţile astfel preparate au fost bizotate plan la nivelul marginilor de smalţ pe o lăţime de aproximativ 1 mm cu pietre diamantate efilate de granulaţie fină.

Cavităţile au fost restaurate cu un materialul nanohibrid Ceram-X Mono - nuanţa M3 (Dentsply DeTrey) aplicat cu sistemul adeziv cu gravare totală Prime&Bond NT (Dentsply DeTrey). Fotoactivarea s-a realizat cu o lampă standard cu lumină halogenă, timp de 20 s pentru adeziv şi 40 s pentru materialul de restaurare. Finisarea suprafeţelor restaurărilor s-a realizat cu discuri abrazive flexibile pe suport de plastic.

Dinţii astfel pregătiţi au fost împărţiţi aleator în 3 grupe (I-III) de câte 10 dinţi, care a fost stocaţi în în apă distilată timp de 1 oră, 24 ore, respectiv 7 zile. După hidratare, dinţii au fost izolaţi prin sigilarea apicală cu o răşină şi prin acoperirea cu lac a tuturor suprafeţelor expuse până la aproximativ 1 mm în afara conturului restaurărilor şi apoi au fost stocaţi timp de 24 de ore în soluţie de albastru de metilen 1%.

După colorare, dinţii au fost spălaţi abundent şi apoi au fost secţionaţi axial, prin masa restaurările realizate.

Probele au fost examinate la microscopul optic Neophot 21, evaluându-se percolarea colorantului la nivelul marginii lor de smalţ ale restaurărilor. Rezultatele au fost comparate apoi prin metode de analiză statistică.

REZULTATE

Valorile percolărilor marginale pentru cele trei loturi sint prezentate în tabelul I.

Valorile medii înregistrate au fost de 0,4 mm pentru lotul nehidratat şi 0,1 mm pentru lotul de probe stocate timp de 48 de ore, respectiv o săptămână (fig. 1).

TABELUL I

Valorile percolărilor cervicale pentru cele trei loturi

Nr. Crt.	Lotul I	Lotul II	Lotul III
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0,05	0	0
5	0,03	0	0,01
6	0,04	0	0
7	0,05	0,07	0
8	0,06	0,03	0
9	0,09	0	0,05
10	0,05	0,01	0,02
Media aritmetică	0,04	0,01	0,01

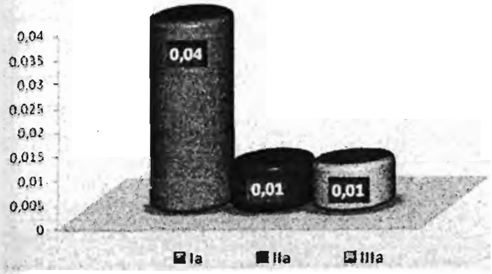


Fig. 1. Valorile medii ale penetrării colorantului pentru cele trei loturi.

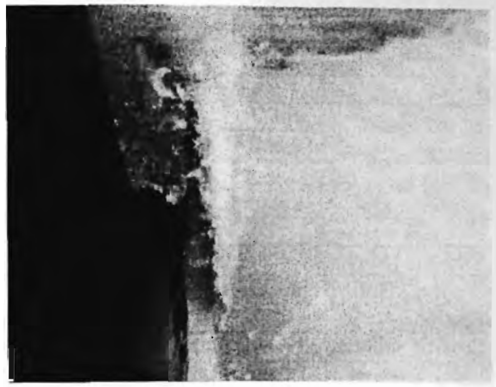


Fig. 2. Percolarea marginală maximă prezentă la una din probele hidratate pe termen scurt.

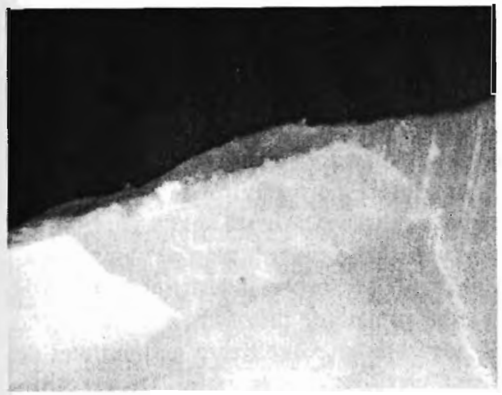


Fig. 3. Sigilare marginală perfectă prezentă la una din probele hidratate timp de 24 de ore

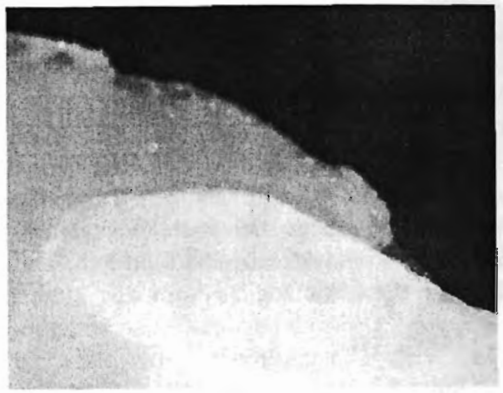


Fig. 4. Sigilare marginală perfectă prezentă la una din probele hidratate timp de 7 zile

Reducerea valorii medii a percolării marginale a fost de aproximativ 0,03 mm după 24 de ore. Sigilarea marginală a restaurărilor la nivelului smalţului a fost bună chiar şi după o perioadă foarte scurtă de hidratare (fig. 2) devenind foarte bună după o hidratare prelungită, când 7 probe din 10 au prezentat valori nule ale percolării colorantului (fig. 3, 4).

Datele au fost analizate statistic pentru a stabili dacă aceste modificări sunt semnificative sau nu (tab. II, III, IV).

Tabelul III cuprinde rezultatele testelor de normalitate, care evaluează gradul de suprapunere dintre distribuţia cumulativă a variabilei analizate şi distribuţia cumulativă a unei variabile a cărei distribuţie urmează curba lui Gauss. Numărul probelor fiind redus, s-a aplicat testul Shapiro-Wilk care a arătat că loturile II şi III prezintă abateri de la distribuţia normală ($p < 0,005$), ceea ce a împiedicat aplicarea unor teste statistice parametrice.

În cazul loturilor I, II şi III distribuţiilea sunt asimetrice şi neuniforme. În consecinţă, pentru a testa diferenţele dintre cele 3 loturi s-a aplicat testul statistic neparametric Kruskal-Wallis, test analog testului Anova.

Datele din tabelul III indică descreşterea mediei rangurilor de la lotul I la lotul III.

Rezultatul testului, afişat în tabelul IV, se exprimă printr-o valoare *chi-pătrat* (6,191),

TABELUL II

Elemente de statistică descriptivă

		Ia	IIa	IIIa
N	Valid	10	10	10
	Missing	0	0	0
Media		,0370	,0110	,0080
Abaterea standard a mediei		,00943	,00722	,00512
Deviaţia standard		,02983	,02283	,01619
Simetrie (*Skewness*)		,080	2,369	2,363
Eroarea standard a simetriei		,687	,687	,687
Boltirea (*Kurtosis*)		-,515	5,587	5,694
Eroarea standard a boltirii		1,334	1,334	1,334

TABELUL III

Testul Kruskal-Wallis pentru loturile I, II şi III Ranks

nr	N	Mean Rank
I	10	20,60
II	10	13,20
III	10	12,70
Total	30	

TABELUL IV

Test Statistics (a,b)

Chi-Square	6,191
df	2
p.	,045

cu două grade de libertate şi p = 0,045. Ca urmare, ipoteza de nul poate fi respinsă, între cele trei loturi existând diferenţe semnificative statistic.

DISCUŢII

Interacţiunea apei cu compozitul se manifestă prin adsorbţia de apă ca şi prin solubilizarea unor componente din structura materialului. Studiile spectroscopice au arătat că acest fenomen este legat în primul rând de hidrofilia şi capacitatea polimerului de a realiza legături de hidrogen (5). Pentru compozite, adsorbţia de apă este controlată de difuzibilitate şi este lentă, tardivă şi restrânsă la nivelul suprafeţei (6). O parte a apei adsorbite rămâne ireversibil legată la matricea de răşină (7), ceea ce necesită o expansiune a acesteia (8). Fiind un fenomen specific în primul rând răşinii, pe măsură ce cantitatea de particule creşte, rata adsorbţiei şi desorbţiei de apă scade (9). Aceste fenomene implică într-o măsură mult mai redusă şi faza dispersată (10). Deşi unele umpluturi de sticlă sunt considerate baze ionizabile (particulele de sticlă de bariu), probabil că reacţia acid-bază este minimă deoarece componentele răşinei sunt ne-acide şi relativ hidrofobe. În compozitele cu umpluturi inerte, hidroliza silanică după expunerea la apă asigură spaţiu pentru gruparea apei de-a lungul interfeţei umplutură-matrice (11), favorizând dislocarea particulelor, urmată de difuzia apei şi fenomene de adsorbţie şi solubilizare a suprafeţei de răşină proaspăt expuse astfel. De aceea dinamica apei în materialul compozit este dependentă de compoziţia, dimensiunea, forma, concentraţia particulelor fazei dispersate dar şi de eficienţa agenţilor de cuplare la nivelul acestei interfeţe. Scăderea dimensiunii particulelor determină o expunere crescută a suprafeţei totale silanizate la apă, ceea ce determină probabil adsorbţia crescută de apă în compozitele microfine comparativ cu cele hibride (11). În cazul răşinilor compozite, adsorbţia de apă nu poate fi separată de disoluţie, fenomen implicat şi în degradarea materialului.

Ceram-X-ul este un compozit nanohibrid caracterizat printr-o matrice organică de răşină dimetacrilică în care sunt uniform dispersate particule de sticlă barium-alumino-borosilicată cu diametre sub 1 micron şi nano-particule de ceramică modificată organic. Aceste particule sunt obţinute prin reacţii controlate de hidroliză şi condensare in precursori silanici ceea ce împiedică agregarea specifică particulelor nanometrice. Nano-particulele de ceramică modificată organic conţin un schelet de polisiloxan, asemănător structural cu sticla, şi ceramicele, la care sunt ataşate grupări metacrilice prin legături carbon-siliciu. Astfel, nanoparticulele asigură pe de o parte rezistenţa şi sunt în acelaşi timp compatibile chimic cu matricea organică. Această structură face materialul omogen şi în acelaşi timp foarte rezistent la solubilizare ($-1,3^2$ μg/mm^3). Pornind de la această premiză, studiul realizat a urmărit evaluarea modului în care fenomenele declanşate prin hidratarea materialului pot influenţa gradul de percolare marginală al restaurării în cazul utilizării unui compozit nanohibrid (Ceram-X Mono).

Contracţia de polimerizare afectează întregul volum al compozitului în timp ce expansiunea higroscopică se concentrează în mare măsură la nivelul suprafeţei materialului, ceea ce explică faptul că deşi procentual contracţia nu este compensată de expansiunea secundară adsorbţiei de apă, la nivel marginal, diminuarea hiatusului marginal poate fi semnificativă.

Perioadele de hidratare ale probelor au fost alese astfel încât să se poată evalua efectul pe termen foarte scurt (24 ore) şi scurt (7 zile) al contactului cu apa. Termenele au fost stabilite în concordanţă cu datele din literatură privitoare la acest subiect. Huang et al. (4) au testat diverse tipuri de materiale restaurative pe bază de răşini şi au ajuns la concluzia că după prima săptămână, nu au mai existat diferenţe semnificative în reducerea procentuală a hiatusurilor marginale pentru nici unul din grupurile de materiale testate.

După hidratarea obturaţiilor, percolările marginale au înregistrat un trend descendent care a fost mai evident în cazul primelor 24 de ore. De altfel această adsorbţie primară de apă din primele 24 de ore constituie motivul pentru care studiile de evaluare a percolării imediat după restaurare, temporizează colorarea cu minimum 24 de ore. Rezultatele obţinute sunt în acord cu concluziile a numeroase studii din literatura de specialitate şi pot fi explicate prin mecanismele expansiunii higroscopice enunţate mai sus. Reducerea percolării marginale secundar stocării în apă demonstrează că se produce o expansiune higroscopică ce compensează parţial contracţia materialului, ameliorând etanşeitatea restaurării în mod similar compozitelor tradiţionale (1,2,4).

Valorile penetrării colorantului la nivelul interfeţei cu smalţul au fost relativ reduse chiar după o hidratare de o oră. Rezultatele noastre confirmă astfel sigilarea eficientă asigurată de sistemele adezive cu gravaj acid la nivelul smalţului. Din acest motiv, îmbunătăţirea acestei sigilări prin adsorbţie de apă deşi semnificativă statistic, este mai puţin relevantă clinic. Rămâne ca teste ulterioare să stabilească în ce măsură această adsorbţie de apă nu poate fi responsabilă pe termen lung de efecte mai puţin dezirabile cum ar fi coroziunea materialului la nivelul interfeţei cu structura dentară.

CONCLUZII

Sigilarea realizată de restaurările din compozit nanohibrid aplicate cu sisteme adezive cu gravaj total este adecvată la nivelul marginilor de smalţ ale cavităţilor.

Testul de percolare a arătat că valorile penetrării albastrului de metilen la nivelul interfeţei smalţ-material de restaurare sunt foarte reduse iar după stocarea în apă, percolarea se reduce semnificativ. În cazul compozitelor nanohibride, expansiunea higroscopică pare să compenseze într-o oarecare măsură defectele de sigilare foarte reduse, care pot apare la nivelul marginilor de smalţ secundar contracţiei de priză. Sunt necesare studii pentru a evalua efectul adsorbţiei de apă pe termen lung.

BIBLIOGRAFIE

1. Rütterman S, Krüger S, Raab WH, Janda R. Polymerization shrinkage and hygroscopic expansiun of contemporary posterior resin-based filling materials - a comparative study. *J Dent* 2007 ; 35 (10) : 806-813.
2. Yap AU, Shah KC, Chew CL. Marginal gap formation of composites in dentine : effect of water storage. *J Oral Rehab* 2003 ; 30 (3) : 236-242.
3. Thonemann BM, Federlin M, Scmalz G, Hiller KA. SEM analysis of marginal expansion and gap formation in Clas II composite restorations. *Dent Mater* 1997 ; 13 (3) : 192-207.
4. Huang C, Kei LH, Wei SH, Cheung GS, Tay FR, Pashley DH. The influence of hygroscopic expansion of resin-based restorative materials on artificial gap reduction. *J Adhes Dent* 2002 ; 4 (1) : 61-71.
5. Vensz S, Dickens B. NIR-spectroscopic investigation of water sorption characteristics of dental resins and composites. *J Biomed Mater Res* 1991 ; 25 : 1231-1248.
6. Mair LH. The silver sorption layer in dental composites : three-year results. *Dent Mater* 1999 ; 15 : 408-412.
7. Diaz-Arnold AM, Arnold MA, Williams VD. Measurement of water sorption by resin composite adhesives with near-infrared spectroscopy. *J Dent Res* 1992 ; 71 : 438-442.
8. Braden M, Davy KW. Water absorption characteristics of some unfillled resins. *Biomaterials* 1986 ; 474-475.
9. Hirano S, Hirasawa T. Water sorption and desorption on experimental composite resins. *Shika Zairyo Kikai* 1990 ; 9 : 878-883.
10. Zui S, Arai K. A study on visible light-cured composite reesins. The influence of long-term water immersion on physical and mechanical properties. *Dent Mater J* 1986 ; 5 : 602-615.
11. Kalachandra S, Wilson TW. Water sorption and mechanical properties of light-cured proprietary composite tooth restorative materials. *Biomaterials* 1992 ; 13 : 105-109.

NOUTĂŢI

MĂSURAREA COLESTEROLULUI CUTANAT POATE IDENTIFICA O ATEROSCEROZĂ ASIMPTOMATICĂ

Prezenţa colesterolului la nivel cutanat (CC), de aproximativ 11 %, a atras interesul cercetătorilor, care au demonstrat anterior că o creştere a nivelului CC se asociază, la subiecţi simptomatici, cu prezenţa şi gradul de severitate a unei cardiopatii. Un studiu recent încearcă să stabilească dacă există o relaţie între ateromatoză (măsurată prin îngroşarea pereţilor vasculari - intima-media, IPV-IM) şi valorile CC la subiecţi cu risc crescut, dar asimptomatici. CC a fost măsutat neinvaziv, la nivelul tegumentelor membrului superior, pentru 565 de subiecţi asimptomatici (vârsta medie 57 ± 10 ani, din care 8% de sex feminin). IPV-IM şi eventuala prezenţă a plăcilor carotidiene au fost estimate prin echo-doppler la nivelul vaselor gâtului. Riscul cardiovascular la 10 ani a fost în medie de 8,4%. O creştere de 10 unităţi ale CC a fost asociată cu o creştere de 12% a riscului (odds ratio) de existenţă a unei IPV-IM ($p < 0{,}006$) şi de 15% a riscului de a avea o placă carotidiană ($p < 0{,}002$). În cazul când $CC > 110$ unităţi, odds ratio şi intervalul de încredere (IC) pentru riscul crescut de IPV-IM a fost de 2,19, IC 1,25-3,85, $p < 0{,}006$, iar pentru riscul de a prezenta o placă carotidiană valorile au fost 2,89, IC 1,61-5,19, $p < 0{,}001$. Măsurarea CC pare să poată identifica o aterosceloză asimptomatică (Stein JH et al. Usefulness of increased skin cholesterol to identify individuals at increased cardiovascular risk from the predictor of advanced subclinical atherosclerosis study. *Am J Cardiol* 2008 ; 101 : 986-991).

Al.D. Ciochină

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

STUDIU PRIVIND EVALUAREA RISCULUI CARIOGEN LA UN LOT DE PACIENŢI DIABETICI

Iulia Mirela Nunchievici, Şt. Lăcătuşu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
Catedra Odontologie-Parodontologie

CARIOGENIC RISK ASSEEMENT IN A GROUP OF DIABETIC PATIENTS (Abstract) : The aim of this study is to bacteriologically investigate the oral environment in patients with diabetes and thereby reveal their influence on the incidence of caries. **Material and method** : We compared oral microbial flora between patients with diabetes (n=40) and healthy people (n=38). Cariogenic bacteria were identified according to Dentocult System. **Results** : When comparing between patients with diabetes and healthy people, the detected number of cariogenic bacteria in the patients with diabetes were significantly higher than in healthy people. **Conclusion** : The findings suggest that patients with diabetes tend to have a higher risk of dental caries than the control. **Key words** : DIABETES, CARIES RISK, DENTOCULT

Scopul studiului a fost evaluarea riscului cariogen la un lot de pacienţi diabetici, utilizând testele de deteminare microbiologică a *Streptococcus mutans* şi a lactobacililor.

MATERIAL ŞI METODĂ

Lotul de studiu a constat din 40 pacienţi diabetici, aflaţi în evidenţa Clinicii de Diabetologie a Spitalului "Sf. Spiridon" Iaşi, şi lotul de control compus din 38 persoane, fără afecţiuni generale, cu vârsta cuprinsă între 34-68 de ani.

Pentru determinarea *Streptococului mutans* am utilizat Kitul Dentocult® SM Strip mutans (Orion Diagnostica Espoc Finland), iar pentru lactobacili - Dentocult® LB. (Orion Diagnostica Espoc Finland).

Tehnica de recoltare

- Determinarea *S. mutans*

Pacientul mestecă parafina pentru 1 minut pentru a stimula secreţia. Mediul de cultură pentru *S. mutans* are o compoziţie prezentată în tabelul I.

S-a introdus un strips în cavitatea orală şi s-a lăsat pe limbă, pentru a fi umezit cu salivă, apoi acesta a fost retras printre buzele închise pentru a îndepărta excesul de salivă. S-a introdus apoi stripsul în tubul cu bulion şi s-a lăsat la incubator pentru 24-48 ore. S-au comparat rezultatele cu harta dată de fabricant şi s-a încadrat stripsul într-una din clase din tabelul II.

Prin interpretarea rezultarelor, riscul cariogen se stabileşte astfel (1) :

- sub 100.000 CFU/ml salivă = risc cariogen mare
- mai mare de 200.000 CFU/ml salivă = risc cariogen mare ;

TABELUL I

Compoziţia chimică a mediului de cultură pentru *S. mutans*

Compoziţie	Proporţie
Tryptose	10 g/L
Peptone	10 g/L
Glucose	1 g/L
Saccarose	300 g/L
K_2HPO_4	5 g/L
Trypan blue	12 mg/L
K–Tellurite (1%)	1 mL/L

TABELUL II

Clasa	CFU
0	<10.000
1	<100.000
2	100.000-1.000.000
3	>1.000.000

TABELUL III
Compoziţia chimică a mediului de cultură pentru lactobacili

Compoziţie mediu de cultură lactobacili	Proporţie
Tryptose	10 g/L
Extract de drojdie	5 g/L
Glucose	2 g/L
K_2HPO_4	6 g/L
Amoniu hidrogen citrat	2 g/L
Sodiu acetat	15 g/L
$MgSO_4$	0,6 g/L
Tween 80	1 g/L
$MnSO_4$	0,10 g/L
$FeSO_4$	0,03 g/L
Acid acetic	1,3 mL/L
Agar agar	20 g/L

- 1 000.000 CFU/ml salivă = carii explozive.

- Măsurarea lactobacililor prin Dentocult LB

Pacientul a fost rugat sa mestece parafina timp de 4 minute. Dispozitivul din plastic cu agar selectiv s-a umezit cu salivă, fie prin prelevare direct de pe limbă, fie saliva s-a colectat într-un vas şi s-a turnat peste marginile dispozitivului de înmuiere.

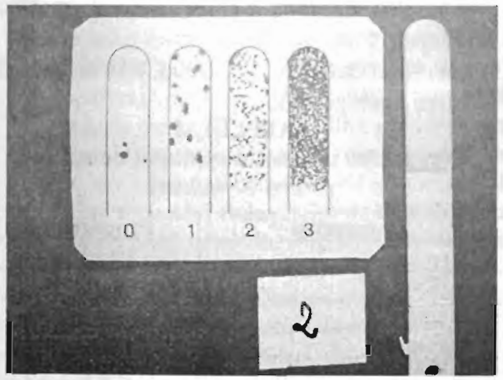


Fig. 1. Determinarea *S mutans*, Pac S.M, lot control, scor 0

TABELUL IV

Clasa	CFU
0	10^3
1	10^4
2	10^5
3	10^6

Împreună cu recipientului său de plastic, proba a fost incubată la 37^0C . După 4 zile numărul de lactobacili de pe suprafaţa de agar a fost estimată comparând-o cu harta dată de fabricant (tab. IV).

REZULTATE

Analiza eşantioanelor de placă, comparativ pe cele două loturi – diabetici şi control - pentru *S. mutans* (fig. 1, 2) relevă următoarele aspecte.

Distribuţia pacienţilor din cele două loturi, in funcţie de scorurile pentru *S. mutans*, este reprezentată în tabelul V.

După cum se poate observa din datele de mai sus (tab. V, fig. 3), la lotul de pacienţi diabetici, numai un pacient din 40 prezintă scor 0 pentru *S. mutans*, scorul 1 fiind înregistrat la 3 pacienţi din lotul diabeticilor (7%) în comparaţie cu 12 pacienţi din lotul de control (32%). Astfel, pentru *S mutans*, 73% din lotul diabeticilor prezintă risc cariogen crescut, faţă de doar 37% din lotul martor, 32% din lotul martor prezintă risc cariogen mediu, fată de doar 7% din lotul diabeticilor (fig. 3,4).

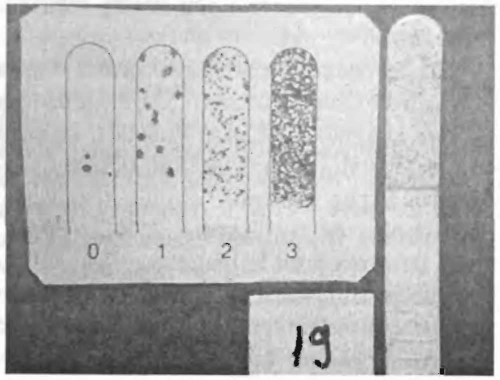


Fig. 2. Determinarea *S mutans*, Pac G.B., lot diabetici, scor 3

TABELUL V
Evaluarea procentuală a scorurilor pentru *S.mutans* la cele două loturi

Scor	Lot martor		Lot diabetici	
	Nr	%	Nr	%
0	2	5%	1	2%
1	12	32%	3	7%
2	10	26%	7	18%
3	14	37%	29	73%

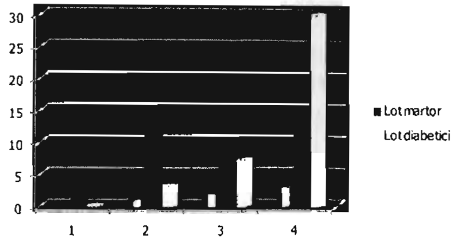


Fig. 3. Repartiţia pacienţilor celor două loturi, în funcţie valorile *S mutans*

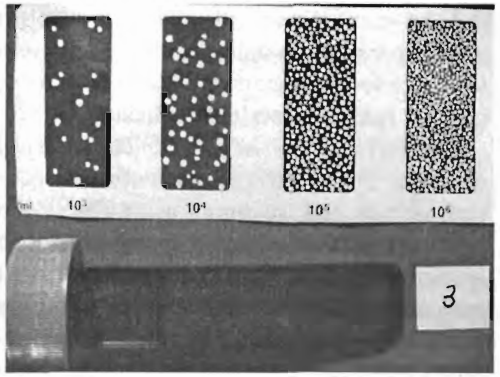


Fig. 4. Determinarea lactobacililor Pacient I.R, lot martor

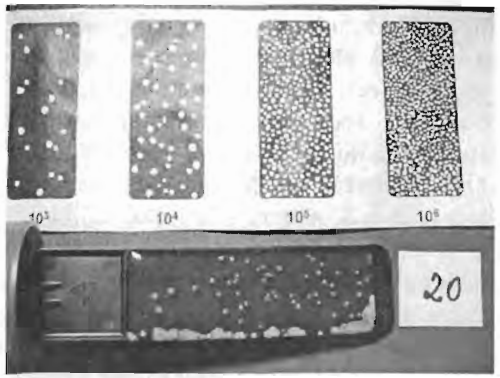


Fig. 5. Determinarea lactobacililor Pacient T.S, lot diabetici

TABELUL VI
Evaluarea procentuală a scorurilor pentru lactobacili la cele două loturi

UFC	Lot martor		Lot diabetici	
	Nr	%	Nr	%
10^3	3	8%	2	5%
10^4	14	37%	7	17%
10^5	11	29%	10	25%
10^6	10	26%	21	53%
UFC: unităţi formatoare de colonii				

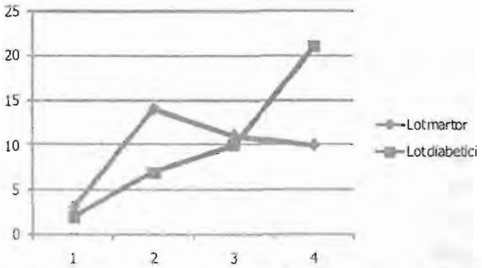


Fig. 6. Repartiţia pacienţilor din cele două loturi, în funcţie valorile lactobacililor

Pentru lactobacili (fig. 4, 5), riscul cariogen crescut se înregistrează la 53% dintre diabetici, în comparaţie cu doar 32% în lotul martor, mult mai puţini diabetici prezentând în indice de risc scăzut (17%) faţă de lotul martor (37%) (tab. VI, fig. 6).

DISCUŢII

Diabetul zaharat este o tulburare metabolică complexă foarte variabilă, determinată genetic, caracterizată de hiperglicemie, asociată cu anomalii majore în metabolismul carbohidraţilor, lipidelor şi proteinelor, însoţită de o predispoziţie marcată de dezvolta forme relativ specifice de insuficienţă renală, oculare, neurologice, şi boli cardiovasculare (1).

Diabetul este o boală cu debut insidios, care evoluează adesea nediagnosticată şi care poate compromite sănătatea orală. Ca urmare a complicaţiilor orale cunoscute, asociate cu hiperglicemia, faptul că multe persoane sunt netratate sau au un control slab al diabetului, compromite eforturile profesioniştilor de a furniza în mod eficient îngrijiri dentare (2,3).

Modificările multiple oro-dentare din diabetul zaharat au ca substrat interesarea arterială degenerativă, pe fondul îmbătrânirii tisulare precoce. Se constată la aceşti bolnavi modificări în dinamica fluxului salivar (hiposialie) afectare parodontală, un tipar de evoluţie mult mai rapidă cariilor , precum şi alte infecţii cronice (mai ales candidozice). În acest context, cercetarea noastră a avut ca scop evaluarea riscului cariogen la un lot de pacienţi diabetici, utilizând testele de deteminare microbiologică a *S. mutans* şi a lactobacililor.

Evaluarea riscului cariogen este o componentă vitală managementului bolii carioase (4).

Testele microbiologice disponibile comercial sunt bazate pe conexiunile evidente statistic în interiorul celor mai mari populaţii numărate de *S. mutans* şi a lactobacililor în salivă şi placă, pe de o parte, şi incidenţa cariilor pe de altă parte (5). Testele microbiologice furnizează informaţii adiţionale atât pentru evaluarea riscului individual de carie, cât şi pentru cauzele sale, şi astfel serveşte ca ajutor decisiv pentru întreaga planificare a terapiei. În plus, investigaţiile microbiologice pot juca un rol important în reevaluarea complianţei pacientului şi eficacitatea programului de prevenţie.

Procedurile de testare microbiologică furnizează “baza pentru prevenţie, făcută să măsoare factorul microbian şi astfel sunt o parte esenţială a medicinii dentare orientată spre prevenţie” (6). Cantitatea de *Streptococcus mutans* şi lactobacili în salivă reflectă fidel numărul de suprafeţe dentare colonizate. Acest aspect este foarte important în evaluarea riscului carios la pacienţii cu risc, cum sunt pacienţii diabetici, deoarece, diabetul zaharat, în special diabetul zaharat de tip 2, constituie unul dintre cele mai importante aspecte legate de sănătatea publică cu care se confruntă lumea în secolul 21. În ultimele decenii, incidenţa diabetului de tip 1 a crescut lent, în timp ce incidenţa diabetului zaharat de tip 2 a crescut exploziv. Se consideră că, la nivel mondial, incidenţa diabetului de tip 2 este de natură să se dubleze, până în anul 2010, datorită, în mare parte schimbării stilului de viaţă, speranţei de viaţă mai lungă, şi creşterii rapide a populaţiilor etnice şi rasiale, care au rate de prevalenţă ridicată (2).

Studiul nostru arată că la pacienţii diabetici, riscul cariogen este crescut, constatare care este susţinută şi de datele din literatură. Studiile clinice şi experimentale au demonstrat că riscul cariogen este mult mai mare pentru o suprafaţă de dinte ce prezintă *Streptococcus mutans* în comparaţie cu o suprafaţă similară în aceeaşi cavitate orală fără aceste bacterii. Unii autori au observat că durata diabetului zaharat pare a nu avea nici un efect asupra prevalenţei cariei, în timp ce alţii au găsit mai multe carii la pacienţi diabetici cu o durată scurtă de timp de la instalarea diabetului decât la cei care au suferit de diabet zaharat mai mult de cinci ani (7). În plus, în unele studii, activitatea carioasă a fost mult mai ridicată la copii imediat după ce aceştia au fost diagnosticaţi cu diabet zaharat, dar, după stabilizarea tulburărilor metabolice, nivelul activităţii bolii carioase a avut valori similare cu cel găsit la copiii non-diabetici. După alte studii, se pare că la subiecţii cu diabet zaharat de mai mult de şase ani se înregistrează o tendinţa mai mare la indici crescuţi ai bolii carioase faţă de subiecţii cu o durată mai scurtă a bolii (7). Diagnosticul de diabet zaharat de la o vârsta fragedă, înainte de vârsta de 5-7 ani, pare a se asocia cu un risc mai scăzut de carie decât după această vârstă.

CONCLUZII

Evaluarea riscului cariogen este o componentă vitală managementului bolii carioase.

La lotul de pacienţi diabetici, atât pentru *S. mutans*, cât şi pentru lactobacili s-au inregistrat valori mai mari ale scorurilor.

Pentru *S. mutans*, 73% din lotul diabeticilor prezintă risc cariogen crescut, faţă de doar 37% din lotul martor, 32% din lotul martor prezintă risc cariogen mediu, faţă de doar 7% din lotul diabeticilor.

Pentru lactobacili, riscul cariogen crescut se înregistrează la 53% dintre diabetici, în comparaţie cu doar 32% în lotul martor, mult mai puţini diabetici prezentând în indice de risc scăzut (17%) faţă de lotul martor (37%).

Procedurile de testare microbiologică la pacienţii cu risc cariogen constituie o metodă eficace de evaluare şi motivare a pacienţilor.

BIBLIOGRAFIE

1. *** American Diabetes Association Tests of glycemia in diabetes. Position Statement. *Diabetes Care* 1998 ; 21 (Suppl 1) : S69–S71.
2. Varon F. The role of the dental professional in diabetes care. *J Contemp Dent Pract* 2000 ; 1 (2) : 1-27.
3. Lalla RV, D'Ambrosio JA. Dental management considerations for the patient with diabetes mellitus. *J Am Dent Assoc* 2001 ; 132 (10) : 1425-1432.
4. Moore PA, Weyant RJ, Etzel KR et al. Type 1 diabetes mellitus and oral health : assessment of coronal and root caries. *Comm Dent Oral Epidemiol* 2001 ; 29 : 183-194.
5. Graves R, Abernathy J, Disney J et al. Caries risk assessment study III. Multiple factors. *J Am Dent Assoc* 2000 ; 131 (6) : 765-769.
6. Fontana M, Zero DT. Assessing patients' caries risk. *J Am Dent Assoc* 2006 ; 137 ; 1231-1239.
7. Taylor GW, Manz MC, Borgnakke WS, Diabetes, periodontal diseases, dental caries and tooth loss : a review of the literature *Compend Contin Educ Dent* 2004 ; 25 (3) : 179-184, 186-188, 190.

NOUTĂŢI

CONSUMUL MODERAT DE ALCOOL LA FEMEI CREŞTE INCIDENŢA CANCERELOR

Cu excepţia cancerului mamar există puţine date referitoare la asocierea consumului moderat de alcool cu riscul de dezvoltare a neoplaziilor cu alte localizări. Autorii au urmărit un număr impresionant de subiecţi : 1 280 296 de femei de vârstă medie. Doar un sfert dintre persoane au negat complet consumul de alcool, iar majoritatea consumatorilor au relatat un consum mediu de 10 g alcool zilnic. Pe o perioadă de urmărire de 7,2 ani au fost diagnosticate 68 775 cazuri noi de cancere. S-a observat că un consum mediu de alcool (indiferent de tipul băuturii) creşte incidenţa leziunilor neoplazice la femeile de peste 75 de ani cu peste 15‰. Autorii au constatat că un consum zilnic moderat de alcool se asociază cu creşterea semnificativă a incidenţei cancerelor la femeile peste 75 de ani : cu 11‰ pentru cancerul de sân, 1‰ cancerele cavităţii orale, faringelui şi rectului. În acelaşi timp s-a constatat reducerea incidenţei cancerului tiroidian şi a limfoamelor non-Hodgkin la consumatoarele de alcool faţă de neconsumatoare (Allen N et al. Moderate alcohol intake and cancer incidence in women. *J Natl Cancer Inst* 2009 ; 101 : 296–305).

Camelia Cojocaru

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

DUREREA ŞI CALITATEA VIEŢII. EVALUĂRI ÎN SĂNĂTATEA ORALĂ

R.S. Campian, Mihaela Băciuţ, G. Băciuţ, Lucia Hurubeanu, Ondine Lucaciu, Cristiana Balog, S. Bran, H. Dinu, H. Rotaru, B. Crişan
Universitatea de Medicină şi Farmacie "I. Haţieganu" Cluj-Napoca
Facultatea de Medicină Dentară
Catedra de Chirurgie Cranio-Maxilofacială

PAIN AND LIFE QUALITY. EVALUATIONS IN ORAL HEALTH (Abstract): Life quality ha s a major importance in the actual social context. The evaluation af the pain sensation as a stress major factor is difficult regarding the variety of the methods, their relevance and their compliance. **Material and method**: We've made an evaluation concerning the trigeminal essential neuralgia pain using different tipe of parameters. **Results**: The results obtained proved a scientific and clinical value of the method that we've initiated and applied in these research. **Key words**: PAIN, ORAL HEALTH, TRIGEMINAL NEURALGIA

Conceptul de sănătate include parametrii biologici, psihici şi sociali. Durerea este un factor conturbator major pentru starea de sănătate. Localizarea durerii la nivel cranio-facial induce bolnavilor disconfort major şi perturbarea gravă a stării de sănătate. Un studiu clinic al durerii presupune o abordare algeziometrica. Experienţa autorilor a demonstrat că alegerea unor metode de evaluare a durerii cât mai obiective şi relevante trebuie realizată în mod particular, în funcţie de condiţiile clinice, psihologice şi sociale ale bolnavilor. Pentru desfăşurarea cercetării am luat în studiu doua loturi de pacienţi cu diagnosticul de nevralgie trigeminala esenţială.

Puţine din metodele de evaluare întrebuinţate în cercetare sunt folosite în practică medicală curentă (1). Modalităţile de evaluare prin scări multidimensionale, scări vizuale analogice, scări numerice, scări verbale simple, scări ale afectării emoţionale sunt mai frecvent folosite. De asemene există în literatura de specialitate comunicate evaluări prin dozarea unor hormoni sau a unor substanţe endogene cu rol în controlul durerii: cortizol, endorfine, adrenalină, ACTH, noradrenalină, prolactină (2). Agenţia Naţională de Acreditare şi Evaluare în Sănătate din Franţa recomandă pentru evaluarea rezultatelor obţinute în tratamentul durerii cronice astfel de metode care trebuie să completeze examinarea clinică deosebit de minuţioasă (3).

Scările de evaluare psihologică se bazează pe o componentă cognitivă care nu este accesibilă bolnavilor dăcât în cazuri foarte rare. Cu cât un chestionar este mai complex cu atât el devine mai fidel dar şi mai greu de întrebuinţat în clinică. Pacientul cu durere cronică nu are disponibilitatea completării unor chestionare interminabile şi nici nu are de multe ori abilitatea de a o face. De aceea, evaluările pe scări verbale simple, în câteva trepte sunt cele mai potrivite. În literatura medicală de specialitate acestea sunt frecvent utilizate (4,5). Pentru a evalua eficientă şi eficacitatea tratamentelor studiate, am considerat oportună folosirea mai multor parametrii de evaluare (6).

MATERIAL ŞI METODĂ

Studiul a fost realizat pe un număr de 237 de pacienţi. Diagnosticul acestor bolnavi a fost nevralgie trigeminala esenţială în una din formele ei clinice.

Rezultatele obţinute au fost comparate intre un lot martor A tratat convenţional şi lotul B tratat prin terapie tisulară şi au fost prelucrate statistic.

Parametrii de evaluare cu care s-a operat au fost consideraţi de trei categorii:

- indicatori de remanenţă: acalmia şi dozele zilnice de carbamazepină;
- indicatori de confort: numărul de crize zilnice, intensitatea durerii şi ariile de durere;
- indicatori economici: numărul zilelor de spitalizare şi perioada de remisie.

Acalmia este perioada de timp în care bolnavul declara absenta durerilor în crize paroxistice.

Carbamazepina este medicamentul de elecţie şi universal recunoscut ca eficient pentru nevralgia trigeminală esenţială, dar observaţiile noastre şi cele din literatură (7) au demonstrat inconstanţa acestui răspuns terapeutic. Din aceste considerente, carbamazepina a fost studiată nu atât ca tratament în sine cât că un indicator al eficienţei altor metode terapeutice aplicate (8), fiind considerat un indicator valoros al remanenţei unui tratament.

Numărul de crize paroxistice au fost contabilizate la debutul tratamentului, la finalul tratamentului şi reducerea medie a numărului de crize după declararea remisiei.

Intensitatea durerii a fost cuantificata pe o scară analogica.

Ariile de durere au fost apreciate în funcţie de suprafatele afectate în teritoriile de inervaţie înainte de tratament şi după tratament.

Numărul de zile de internare a fost contabilizat în zile calendaristice şi are o însemnată pondere economică într-o evaluare complexă a unei metode de tratament..

Remisia am evaluat-o distinct faţă de acalmie, înţelegând prin remisie perioada de timp în zile, necesară obţinerii unei stări confortabile, fără dureri iar acalmia a fost evaluată în luni de zile, reprezentând timpul în care bolnavul nu a mai avut nevoie de tratament. Această perioadă a fost parte integrantă a perioadei de spitalizare şi coincidentă cu durata tratamentului.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Obiectivul acestui studiu a fost aprecierea valorii metodelor de evaluare a durerii.

Vârstele medii ale pacienţilor au fost cuprinse între 39 şi 81 de ani. Media de vârstă a fost 51,857 de ani la lotul martor A. Media generală de vârstă a lotului B a fost de 60,51 de ani.

Numărul de zile de internare la lotul B a fost de maxim 30 de zile şi în medie de 15,47 zile. La bolnavii din lotul A numărul maxim de zile de internare a fost de 60 de zile iar media de 13,916 zile. Deviaţia standard a fost 6,513 şi respectiv de 9,165. La aplicarea testului Kruskal-Wallis a rezultat un p = 0,059639 nesemnificativ.

Remisia după tratament în lotul B a fost obţinută în maxim 25 de zile, cu o medie de 11,889 zile. Bolnavii din lotul A au avut remisia în maxim 30 de zile, cu o medie de 10,851 zile. Deviaţia standard a fost 4,874 la lotul B şi 5,857 la lotul A, iar valoarea p = 0,315467 nu este semnificativă, după aplicarea testului ANOVA.

Acalmia pe care am obţinut-o la lotul B a fost de maxim 62 de luni de zile, cu o medie de 34,742 luni. La pacienţii din lotul A acalmia a fost de maxim 78 luni de zile, dar media a fost de 18,083 luni de zile. Deviaţia standard a fost 14,515 şi respectiv de 10,959. Acalmia a fost semnificativ mai bună la lotul B cu un p = 0,000001 la testul Kruskal-Wallis.

Intensitatea durerilor înainte de tratament a fost la o medie de 4,889 la lotul B şi de 4,421 la restul subiecţilor (fig. 1), cu deviaţie standard 0,319, respectiv de 1,082. Aplicarea testului Kruskal-Wallis a arătat un p = 0,001227, semnificativ.

După aplicarea tratamentului, intensitatea durerilor a fost 1,056 la lotul B și 1,262 la lotul A. Deviația standard a fost 0,33 și 0,611. Aplicarea testului Kruskal-Wallis a oferit un p = 0,030625, semnificativ.

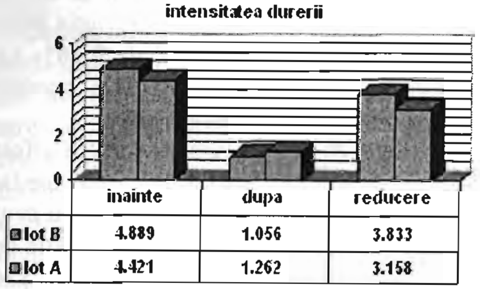
La calcularea valorilor care au cuantificat reducerea intensității durerilor, a rezultat o medie de 3,833 la lotul B și de 3,158 la lotul A. Deviația standard a fost 0,507 și respectiv de 0,975. Aplicarea testului Kruskal-Wallis a condus la un p = 0,000004, puternic semnificativ.

Numărul de crize înainte de tratament a fost în medie de 9,889 la lotul B și de 6,776 la lotul A (fig. 2). Deviația standard a fost 6,718, respectiv 4,678. Aplicarea testului de analiză statistică Kruskal-Wallis a arătat un p = 0,002537, semnificativ.

După tratament și obținerea remisiei, am observat că media numărului de crize zilnice a scăzut. La cei din lotul B a fost o medie de 0,139 iar la pacienții care au urmat alte tratamente a fost media de 0,574. Deviația standard a fost 0,487 și de 0,909. Testul Kruskal-Wallis a oferit un p = 0,001297 care este din punct de vedere statistic semnificativ.

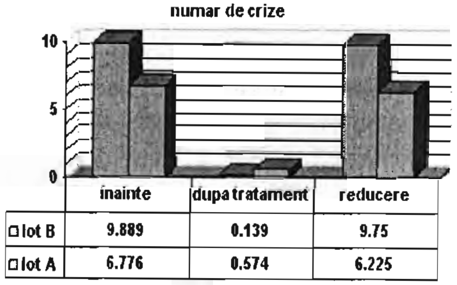
Reducerea numărului de crize a fost la lotul B 9,75, față de 6,225, la lotul A. Deviația standard a fost 6,596 și respectiv de 4,417. Aplicarea testului Kruskal-Willis a arătat un p = 0,000450, semnificativ.

Aria de durere înainte de tratament a fost maximă la lotul B (valoare=1) și 0,955 la lotul A cu diferență nesemnificativă (p = 0,194159). Datele au fost prezentate în figura 3. După tratament, aria de durere s-a redus considerabil la lotul B fiind de 0,022, față de 0,091 la lotul A. Deviațiile standard au fost 0,048 și 0,096, iar analiza statistică prin testul Kruskal-Wallis a relevat o diferență semnificativă a acestor valori (p = 0,000017).



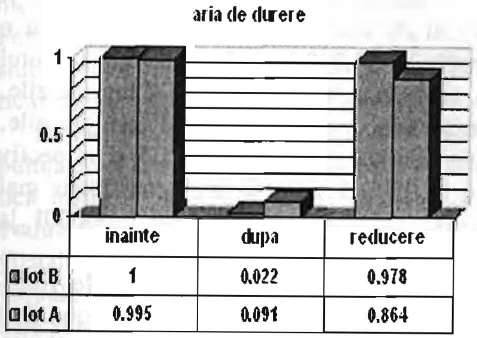
	inainte	dupa	reducere
▨ lot B	4.889	1.056	3.833
▨ lot A	4.421	1.262	3.158

Fig. 1. Reprezentarea evaluărilor la parametrul "intensitatea durerii" comparativ la lotul A și la lotul B



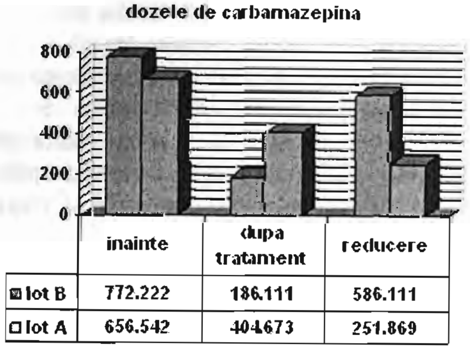
	inainte	dupa tratament	reducere
☐ lot B	9.889	0.139	9.75
☐ lot A	6.776	0.574	6.225

Fig. 2. Reprezentarea evaluărilor la parametrul "număr de crize" comparativ la lotul A și la lotul B



	inainte	dupa	reducere
▨ lot B	1	0.022	0.978
☐ lot A	0.995	0.091	0.864

Fig. 3. Reprezentarea evaluărilor la parametrul „aria de durere" comparativ la lotul B și la lotul A



	inainte	dupa tratament	reducere
▨ lot B	772.222	186.111	586.111
☐ lot A	656.542	404.673	251.869

Fig. 4. Reprezentarea evaluărilor la parametrul „doze de carbamazepină" comparativ la loturile B si A

Reducerea ariei de durere în urma tratamentelor a fost în medie cu 0,978 unități la lotul B și de 0,864 unități la lotul A. Deviația standard a fost 0,048 la lotul B și 0,211 la lotul A. La aplicarea testului Kruskal-Wallis a reieșit p = 0,000002, inalt semnificativ.

Carbamazepina a fost administrată inițial în doze zilnice medii de 772,222 mg la lotul B și de 656,542 mg la lotul A, fără a fi diferențe semnificative (la testul ANOVA, p = 0,184599). Deviațiile standard au fost: 458,95 și 486,464. Rezultatele sunt prezentate grafic în figura 4.

La finalizarea tratamentelor, bolnavii din lotul B luau în medie 186,111 mg/zi iar lotul A 404,673 mg/zi. Deviația standard a fost 226, 971 și 466,106 iar aplicarea metodei ANOVA de calcul a relevat o diferență semnificativă, cu p=0,006294.

La calcularea diferenței dintre medicația inițială și cea finală, s-a constatat o reducere a dozei de carbamazepină la lotul B, adică în medie 586,111 mg, cu deviație standard egală cu 404,371. La lotul A media reducerii dozei a fost de 251,869 mg, cu o deviație standard 606,205. Diferența a fost semnificativă rezultând p = 0, 000450.

CONCLUZII

1. Ca eficacitate, tratamentul la lotul B s-a remarcat prin cele mai bune rezultate la indicatorii de remanență. Reducerea intensității durerii a fost semnificativ ($p<0,05$) mai importantă la lotul B față de lotul A.
2. Reducerea numărului de crize de durere paroxistică a fost semnificativ ($p<0,05$) mai mare la lotul B față de lotul A.
3. La lotul B am obținut o reducere semnificativ mai bună ($p<0,05$) a ariei de durere după efectuarea tratamentului, comparativ cu lotul A.
4. Reducerea dozelor zilnice de carbamazepină a fost mai importantă ($p<0,05$) la lotul B decât la lotul A.
5. Indicatorii (parametrii) intrebuintati la efectuarea studiului s-au dovedit foarte utili oferind rezultate usor cuantificabile.
6. Inregistrarea datelor a avut un grad de dificultate redus iar complianta metodei folosite s-a dovedit corespunzatoare.

BIBLIOGRAFIE

1. Boucher Y, Godefroy J-N. Expression et evaluation de la douleur. *Information Dentaire* 2000 ; 24 : 1807-1826.
2. Elwan O, Abdella M, el Bayad AB, Hamdy S. Hormonal changes in headache patients *J Neurol Sci* 1991 ; 106 (1) : 75-81.
3. *** Agence Nationale d'Acreditation et d'Evaluation en Sante. *Recommandation et References Professionnelles* - 25 themes medicaux. Paris : Ed. ANAES, 2000, 52-65.
4. Constantini D, Delogu G, Lo Bosco L, Tomasello C, Sarra M. The treatment of cranio-facial pain by electroacupuncture and laser. *Ann It Chir* 1997 ; 68 (4) : 505-509.
5. Scrivani SJ, Chaudry A, Maciewicz RJ, Keith DA. Chronic neurogenic facial pain : lack of response to intravenous phentolamine. *J Orofacial Pain* 1999 ; 13 (2) : 89-96.
6. Couturier M. *La douleur. Place des antalgiques*. Paris : Ed. De l'Interligne, 1992, 10-14, 30-38.
7. Taylor JC, Brauer S, Espir ML. Long-term treatment of trigeminal neuralgia with carbamazepine. *Postgrad Med J* 1981 ; 57 (663) : 16-18.
8. Spacek A, Hanl G, Groiss O, Koinig H, Kress HG. Akupunktur und ganglionare lokale Opioid-analgesie (GLOA) bei Trigeminusneuralgie. *Wiener Med Wochenschrift* 1998 ; 148 (19) : 447-449.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

ANALIZA RADIOGRAFIEI PANORAMICE ÎN DIAGNOSTICUL ASIMETRIEI CRANIO-MAXILO-FACIALE

Daniela Anistoroaei
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
Disciplina de Ortodonţie şi Ortopedie Dento-Facială

PANORAMIC ANALYSIS IN DIAGNOSIS OF CRANIO-MAXILLO-FACIAL ASYMMETRIES (Abstract): **Aim** : To assess the panoramic radiographs in diagnosis of the the dento-maxillo-facial asymmetries. **Material and method** : The panoramic radiographs of 140 children were evaluated using the Levandoski panographic analysis. Levandoski left/right linear measurements were taken and statistically compared : hemimaxillary length, distance gonion to midline, distances coronoid process and condylar process to gonion, distance coronoid process to condylar process, distances between superior incisor and inferior incisor to condylar process. **Results** : No statistically significant associations were obtained between hemimaxillary length, distance gonion to midline, distance coronoid process and condylar process to midline. The results revealed statistically significant difference between right and left side only in dental region (superior and inferior dental region). The results of the study support the usefulness of the Levandoski panographic analysis in diagnosis of facial and dental asymmetries, and its relation to the findings on other diagnostic analyses. **Conclusion** : The study emphasizes the necessity of a critical evaluation of the utility of diagnostic tests and procedures. **Key words** : PANORAMIC RADIOGRAPH, ASYMMETRY, LINIEAR MEASUREMENTS

Diagnosticul şi etapizarea tratamentului în cazurile cu asimetrii la nivel scheletal, dento-alveolar, sunt importante deoarece tratamentul variază în funcţie de componentele crano-maxio-faciale afectate. Tratamentul prin chirurgie ortognată, expansiunea chirurgicală sau non-chirurgicală, aparate funcţionale, reprezintă doar câteva din variantele de tratament utilizate în asimetrii, care pot duce la modificarea structurilor cranio-maxilo-faciale. De aici reiese importanţa determinării cu acurateţe a gradului în care asimetria contribuie la malocluzie. În acest scop au fost dezvoltate diverse metode de evaluare a asimetriei, explorarea radiologică fiind mult utilizată datorită uşurimii şi acurateţei de efectuare a măsurătorilor. În ortodonţie ortopantomografia reprezintă un examen radiologic obligatoriu, însă este puţin folosită pentru aprecierea comparativă a structurilor anatomice bilaterale, de la nivel maxilar şi mandibular. Limitele utilizării ortopantomografiei în scopul cuantificării gradului de asimetrie derivă din posibilele erori de tehnică radiologică (poziţionarea pacientului, calibrarea aparatului etc.) (1,2) , totuşi Levandoski (3) în 1991, ne-a oferit un sistem unic de analiză a filmului panoramic.

Scopul studiului a fost de a evidenţia posibilitatea utilizării ortopantomografiei pentru diagnosticul asimetriei, la nivel dento-maxilo-facial.

MATERIAL ŞI METODĂ

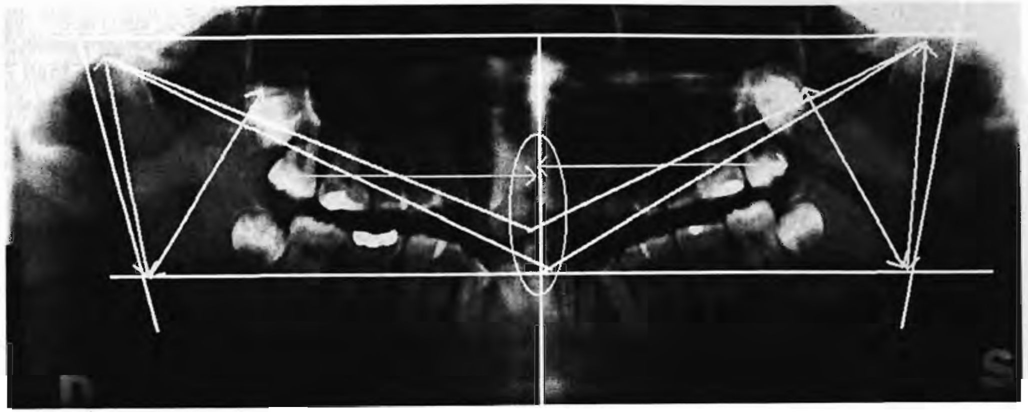


Fig. 1. Analiza Levandoski

În studiu au fost analizate 140 de ortopantomografii care au îndeplinit condiţiile standard de orientare ale pacientului (4). Metoda de analiză a fost cea a lui Levandoski care permite aprecierea asimetriei pe baza unor măsurători liniare dreapta-stânga.

Ortopantomografiile au fost examinate şi apoi au fost trasate (de un singur examinator), punctele şi liniile de referinţă furnizate de Levandoski utilizând un negatoscop, hârtie de calc şi creion negru de 0,5 mm. S-au măsurat pe ortopantomografie următoarele dimensiuni liniare (dreapta/ stânga), care au constituit şi variabilele analizate din punct de vedere statistic (fig. 1) :

1. lungimea hemimaxilarului ;
2. distanţele de la gonion, la linia mediană de-a lungul liniei inter-gonion ;
3. distanţa condil-gonion ;
4. distanţa coronoidă-gonion ;
5. distanţa dintre punctul inter-incisiv superior şi punctul supero-extern al condilului ;
6. distanţa dintre punctul inter-incisiv inferior şi punctul supero-extern al condilului ;
7. diferenţa de lungime dintre cei doi condili ;
8. înclinarea planului ocluzal.

Pentru analiza statistică s-a folosit testul t Student, metoda de analiză a varianţei ANOVA *testul Kolgomorov-Smirnov*, *testul Levene*, *testul Mann-Whithey U* pentru compararea mediilor.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Pentru *lungimea hemimaxilar - drepta / stânga* analiza statistică descriptivă realizată arată că mediile sunt destul de apropiate (stânga - 54,01 şi dreapta -53,96), şi nu ne aşteptăm la diferenţe semnificative statistic deoarece intervalele de estimarea a mediilor se suprapun (tab. I).

Testul Anova (p=0.940), arată ca nu există diferenţă semnificativă între cele două seturi de date, iar testul Kolmogorov-Smirnov arată că datele sunt repartizate normal pentru hemimaxilarul drept (p=0,130) şi stâng (p=0,192) (tab. II).

Pentru *distanţele gonion - linie mediană (dreapta şi stânga)* mediile sunt apropiate (dreapta - 85,60, stânga - 84,71), intervalele de estimarea a mediilor se suprapun, testul Anova (p=0,340) arată că nu există diferenţă semnificativă între cele două seturi de date, datele fiind repartizate normal, pentru distanţa gonion drept - linia mediană (p=0,629) şi distanţa gonion stâng - linie mediană (p=0,351)

Pentru *distanţa condil - gonion dreapta / stânga*, mediile sunt apropiate (stânga - 94,90 şi dreapta - 65,27), iar conform testului Anova (p=0,659) nu există diferenţe semnificativ statistic între cele două seturi de date, repartiţia fiind normala (test Kolmogorov-Smirnov - p=0,176).

TABELUL I

Statistica descriptivă – hemimaxilar drept-stâng

	N	Mean (media)	Std. Deviation (Deviaţia standard)	Std. Error (Eroarea Standard)	95% Confidence Interval for Mean 95% Interval de confidenţă a mediei		Minimum minimum	Maximum maximum
					Lower Bound (Limita inferioară)	Upper Bound (Limita superioară)		
Stânga	140	54,0107	5,11433	0,43224	**53,1561**	**54,8653**	40,00	68,00
Dreapta	140	53,9643	5,14839	0,43512	**53,1040**	**54,8246**	42,00	68,00
Total	280	53,9875	5,12224	0,30611	53,3849	54,5901	40,00	68,00

TABELUL II

Testul One-Sample Kolmogorov-Smirnov hemimaxilar drept

		Lungime hemimaxilar drept
N		140
Normal Parameters (a,b) (parametri normali)	Mean (media)	53,9643
	Std. Deviation (deviaţia standard)	5,14839
Most Extreme Differences (diferenţe extreme)	Absolute (absolut)	0,099
	Positive (pozitiv)	0,099
	Negative (negativ)	-0,056
Kolmogorov-Smirnov Z		1,170
Asymp. Sig. (2-tailed) (semnificaţie statistică)		0,130

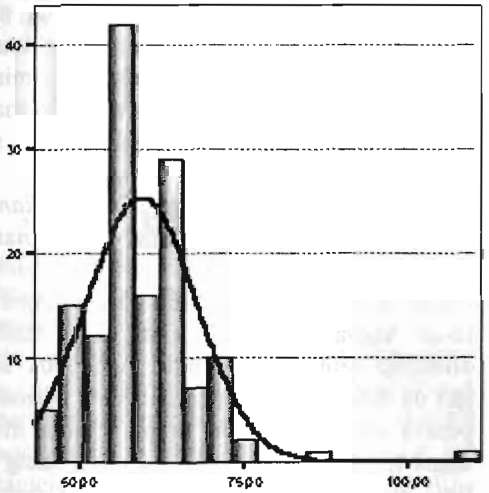


Fig. 2. Distanţa coronoidă - gonion dreapta

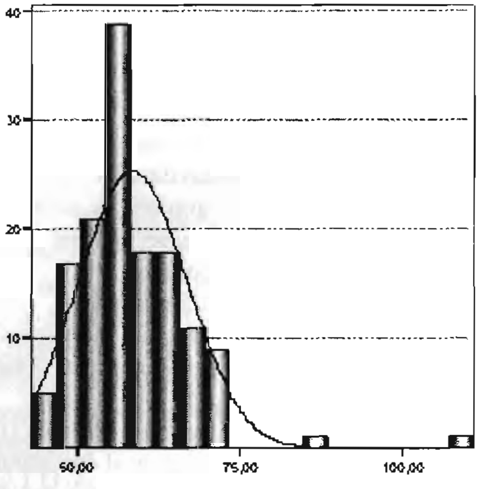


Fig. 3. Distanţa coronoidă - gonion stânga

Pentru *distanţa apofiza coronoidă - gonion (dreapta / stânga),* conform analizei statistice descriptive, mediile sunt destul de apropiate (dreapta - 59,32, stânga - 58,38). Testul Anova (p=0,342), arată că nu există diferenţă semnificativă între cele două seturi de date. Distribuţia de frecvenţă este cea prezentată în fig. 2, 3, observându-se o repartiţie normală, simetrică.

Pentru *distanţa dintre punctul inter-incisiv superior şi punctul supero-extern al condilului (dreapta /stânga),* analiza statistică descriptivă realizată pentru a observa dacă există diferenţe semnificative între parametrii studiaţi, arată că mediile sunt destul de diferite (dreapta - 109,25, stânga-105,34), intervalele de estimare a mediilor nu se suprapun - deci ne aşteptăm la diferenţe semnificative statistic (tab. III).

Testul Anova (p=0,091) arată că nu există diferenţa semnificativă între cele două seturi de date, iar datele nu sunt repartizate normal pentru distanţa dintre punctul inter-incisiv superior şi punctul supero-extern al condilului dreapta (testul Kolmogorov-Smirnov p=0,000), deci putem afirma că există diferenţă semnificativă faţă de distribuţia normală. Deoarece datele nu sunt repartizate normal (mai ales pentru distanţa dintre punctul inter-incisiv superior şi punctul supero-extern al condilului – dreapta, care are şi o deviaţie foarte mare între limitele superioară şi inferioară (lower/upper) s-a aplicat testul Mann-Whitney (p= 0,022), care arată că între cei doi parametri există o diferenţă semnificativă statistic (tab. IV).

Pentru *distanţa punctul inter-incisiv inferior - punctul supero-extern al condilului dreapta / stânga*, analiza statistică descriptivă realizată pentru a observa dacă există diferenţe semnificative între distanţa dintre punctul inter-incisiv inferior şi punctul supero-extern al condilului dreapta /stânga, arată că mediile sunt destul de diferite – se observă că intervalele de estimare a mediilor nu se suprapun (dreapta – 111,66, stânga – 107,64) (tab. V).

Varianţele pot fi considerate ca egale

TABELUL III

Statistica descriptivă – Distanţa dintre punctul inter-incisiv superior şi punctul supero-extern al condilului dreapta /stânga

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Stânga	140	105,3429	7,71318	0,65188	104,0540	106,6317	76,00	138,00
Dreapta	140	109,2500	26,17982	2,21260	104,8753	113,6247	80,00	405,00
Total	280	107,2964	19,36319	1,15717	105,0185	109,5743	76,00	405,00

TABELUL IV

Testul Mann-Whitney

	I superior-condil
Mann-Whitney U	8252,500
Wilcoxon W	18122,500
Z	-2,289
Asymp. Sig. (2-tailed)	**0,022**

TABELUL V

Statistica descriptivă –Distanţa punct inter-incisiv inferior – punctul supero-extern al condilului dreapta /stânga

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Stânga	140	107,6429	14,12537	1,19381	105,2825	110,0032	10,00	205,00
Dreapta	140	111,6607	13,51768	1,14245	109,4019	113,9195	86,00	209,00
Total	280	109,6518	13,94604	0,83344	108,0112	111,2924	10,00	209,00

TABELUL VI
Test ANOVA distanţa punct inter-incisiv inferior – punctul supero-extern al condilului dreapta /stânga

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1130,022	1	1130,022	5,912	0,016
Within Groups	53133,277	278	191,127		
Total	54263,299	279			

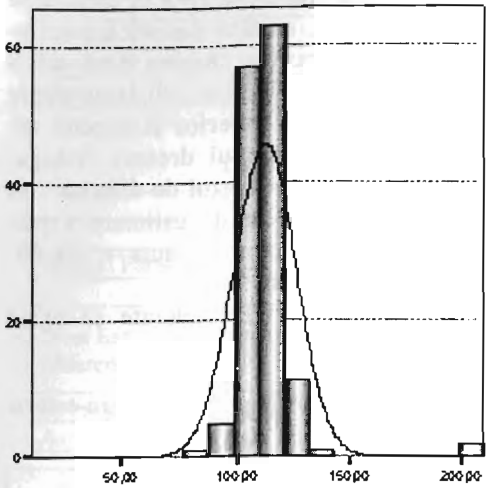


Fig. 4. Distanţa incisiv inferior - condil dreapta

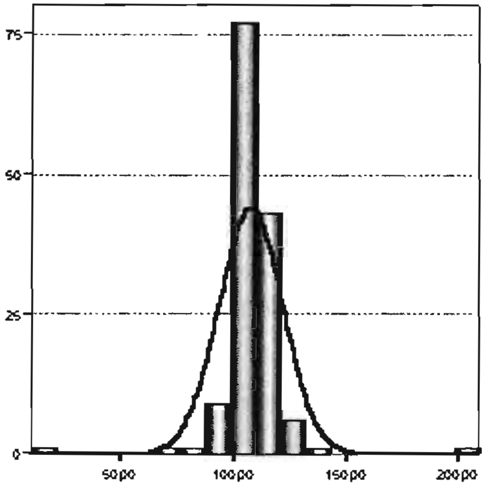


Fig. 5. Distanţa incisiv inferior - condil stânga

TABELUL VII
Testul Mann-Whitney

	i_inf_dr
Mann-Whitney U	7571,000
Wilcoxon W	17441,000
Z	-3,296
Asymp. Sig. (2-tailed)	**0,001**

(p=0,950), deci se poate aplica testul Anova (p=0,016), deci există diferenţă semnificativă între cele două seturi de date (tab. VI).

În continuare s-a verificat dacă datele sunt repartizate de tip normal şi s-a obţinut p=0,000, deci nu sunt repartizate normal pentru distanţa dintre punctul inter-incisiv inferior şi punctul supero-extern al condilului dreapta (fig. 4). S-a aplicat acelaşi procedeu pentru distanţa dintre *punctul inter-incisiv inferior şi punctul supero - extern al condilului stâng,* se observă că datele nu sunt repartizate normal, p=0,000, deci nu există diferenţă semnificativă faţă de distribuţia normală (fig. 5).

Deoarece datele nu au fost repartizate normal (datele au deviaţie foarte mare), s-a aplicat testul Mann-Whitney şi s-a observat că p=0,001, deci între distanţa dintre punctul inter-incisiv inferior şi punctul supero-extern al condilului dreapta/stânga există o diferenţă semnificativă statistic (tab. VII).

La lotul studiat la 71,43% dintre subiecţi condilii au avut lungime egală, la 20,71% condilul drept a fost mai lung, iar la 7, 86% condilul stâng. Analiza statistică a arătat că la 65% dintre pacienţi studiaţi planul ocluzal a fost orizontal, la 17,86% a fost înclinat spre dreapta, iar la 17,14% planul de ocluzie a fost înclinat spre stânga.

Rezultatele obţinute de noi confirmă din punct de vedere statistic (prin absenţa relaţiilor statistic semnificative între o parte din parametrii care caracterizează regiunile anatomice studiate: lungime hemimaxilar, distanţa linie mediană - gonion, condil - gonion, apofiza coronoidă - gonion), ipoteza (5), conform căreia nu se poate stabili o dominanţă a uneia din părţi (dreaptă sau stângă) confirmând, încă o dată principiul biologic conform căruia asimetria nu se manifestă niciodată cu o precizie matematică, existând invariabil diferenţe minore chiar între organele omologe.

Rezultatele obţinute, sunt de asemenea în concordanţă cu cele ale lui Turp (6) şi Kambylafkas (7), care arată că există o dominanţă în dezvoltare a hemimandibulei drepte. De asemenea, studiul confirmă rezultatele obţinute de aceiaşi autori cu privire la faptul că apofiza coronoidă este mai asimetrică decât condilul, fapt relevat de comparaţia dintre diferenţele mediilor: pentru apofiza coronoidă 0,94, iar pentru condil 0,36. Acest lucru ar putea să dovedească faptul că asimetria la nivelul apofizei coronoide este mai accentuată decât la nivelul condilului, comparaţia dintre cei doi parametrii realizată prin testul t arătând că între cei doi parametrii există corelaţii semnificative din punct de vedere statistic.

Deşi înclinarea planului de ocluzie ar putea fi expresia diferenţei de lungime a condililor mandibulari, în acest studiu, în urma aplicării testului chi pătrat, nu au fost găsite corelaţii statistic semnificative între aceşti doi parametri, rezultatele fiind în concordanţă cu cele ale lui Akcam (5) şi Piedra (8). Regiunea cea mai supusă deviaţiei a fost cea dentară (rezultate statistic semnificative), confirmând astfel datele pe care le-am obţinut şi prin alte metode de diagnostic (examen clinic, studiu de model) fiind în concordanţă cu observaţiile realizate de Kula (9), care arată că există un grad de asimetrie la nivel dento-alveolar chiar şi la pacienţii cu ocluzie normală.

CONCLUZII

Dacă sunt respectate condiţiile standard de realizare a ortopantomografiei, aceasta poate deveni un examen paraclinic util în diagnosticul asimetriilor dento-maxilo-faciale. Rezultatele obţinute ne fac să afirmăm că există o dominanţă în dezvoltare a hemimandibulei drepte, apofiza coronoidă fiind mai asimetrică decât condilul, dar cel mai asimetric este sectorul dentar.

Deşi examenele paraclinice sunt indispensabile pentru diagnosticul asimetriei, rezultatele acestora trebuie însă întotdeauna susţinute de un examen clinic riguros.

BIBLIOGRAFIE

1. Scarfe WC, Eraso FE, Farman AG. Characteristics of the orthopantomograph OP 100. *Dentomaxillofac Radiol* 1998 ; 27 : 51-57.
2. Farman TT, Kelly MS, Farman AG. The OP 100 Digipan : evaluation of the image layer, magnification factors, and dosimetry. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997 ; 83 : 281-287.
3. Levandoski RR. Mandibular whiplash. Part I. An extension flexion injury of the temporomandibular joint. *Funct Orthod* 1993 ; 10 : 26-29.
4. Akcam O, Altiok T, Ozdiler E. Panoramic radiographs : a tool for investigating skeletal pattern. *Am J Orthod Dentofacial Orthopedics* 2003, 123 (2) : 175-181.
5. Lundström A. Some asymmetries of the dental arches jaws, and skull and their etiological significance. *Am J Orthod* 1961 ; 47 : 81-106.

6. Türp JC, Vach W, Strub JR, Harbich K, Alt KW. The recognition of mandibular asymmetries in the panoramic tomogram. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1995 ; 105 (6) : 755-759.
7. Kambylafkas P, Murdock E, Gilda E, Tallents RH, Kyrkanides S. Validity of panoramic radiographs for measuring mandibular asymmetry. *Angle Orthod* 2006 ; 76 (3) : 388-393.
8. Piedra I. The Levandoski panoramic analysis in the diagnostic of facial and dental asymmetries. *J Clin Ped Dent* 1995 ; 20 : 15-21.
9. Kula K, Esmailnejad A, Hass A. Dental arch asymmetry in children with large overjets. *Angle Orthod* 1998 ; 68 : 45-52.

NOUTĂŢI

ASTROGLIA ÎN DEMENŢĂ ŞI BOALA ALZHEIMER

Astrocitele modulează microarhitectura creierului, acţionând ca element principal al sistemului homeostatic cerebral. Acest studiu arată faptul că atrofia celulelor gliale şi respectiv astroglioza reactivă hipertrofică se derulează în paralel în timpul proceselor neurodegenerative care conduc la demenţă şi boala Alzheimer. Instalarea acestor afecţiuni e determinată de perturbarea echilibrului dintre distrucţie, neuroprotecţie şi regenerare. Astrocitele contribuie la distrucţii neuronale, când leziuni severe compromit metabolismul astrocitar. Atunci apare o depolarizare şi se inversează sistemul de preluare a glutamatului, exacerbându-se alterările cerebrale. Markerii histopatologici ai bolii Alzheimer sunt reprezentaţi de depozite focale extracelulare de β-amiloid fibrilar (plăci neuritice) în parenchimul cerebral şi în pereţii vaselor de sânge şi respectiv de acumulări neurofibrilare alcătuite din filamente sau anormal hiperfosforilate. Potenţialul patologic al celulelor gliale în progresia acestei afecţiuni constă într-o evoluţie spaţială distinctă : astrocitele ce înconjoară plăcile neuritice suferă glioză, iar cele la distanţă de depozitele de amiloid dezvoltă un proces de atrofiere. Celulele astrogliale reactive vor distruge neuronii, iar distrucţia neuronală masivă are rol principal în dezvoltarea demenţei severe la om (Rodriguez JJ, Olabarria M, Chvatal A, Verkhratzky A. Astroglia in dementia and Alzheimer's disease. *Cell Death Differ* (2009) ; 16 : 378-385).

Carmen Zamfir

UTILITATEA IMAGISTICII PET/CT CU ^{11}C-COLINĂ ÎN EVALUAREA RECIDIVEI LOCALE LA PACIENŢI CU NEOPLASM DE PROSTATĂ DUPĂ PROSTATECTOMIE RADICALĂ

Adenocarcinomul de prostată este cea mai frecventă neoplazie la bărbaţi şi cea mai frecventă cauză de deces a acestora în America. Recidiva locală apare în 50% de cazuri, diagnosticul precoce al acesteia având implicaţii majore asupra tratamentului şi a prognosticului maladiei. Imagistica PET/CT poate aduce beneficii certe atât în diagnosticul precoce al recidivei locale cât şi în urmărirea răspunsului acesteia la tratament. Un studiu PET/CT cu ^{11}C colină, efectuat pe un lot de 49 de pacienţi diagnosticaţi cu adenocarcinom de prostată, a identificat precoce recidiva locală într-un procent de 70% şi a evaluat corect răspunsul la radioterapia locală în 71 % din cazuri. În concluzie, alături de evaluarea metabolismului glucidic tumoral cu ^{18}F FDG PET, evaluarea metabolismului aminoacizilor cu ^{11}C colină PET, asociat cu CT poate constitui un marker neinvaziv util în urmărirea evolutivităţii neoplasmului de prostată (Reske S, Blumstein N, Glatting G. ^{11}C choline PET/CT imaging in occult local relapse of prostate cancer after radical prostatectomy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008 ; 35 : 9-17).

Cipriana Ştefănescu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

DEGRADATION OF PVC/HC BLENDS. II. TERRESTRIAL PLANT GROWTH TEST

Mihaela Pascu[1], Gabriela-Elena Agafiţei[2], Lenuţa Profire[3], Cornelia Vasile[2]
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Pharmacy
1. Department of Biophysics
3. Discipline of Pharmaceutical Chemistry
2. "P. Poni" Institute of Macromolecular Chemistry Iaşi

DEGRADATION OF PVC/HC BLENDS. II. TERRESTRIAL PLANT GROWTH TEST (Abstract) : The behavior at degradation by soil burial of some plasticized polyvinyl chloride (PVC) based blends with a variable content of hydrolyzed collagen (HC) has been followed. **Material and method** : The modifications induced in the environment by the polymer systems (pH variation, physiologic state of the plants, assimilatory pigments) were studied. Using the growth test of the terrestrial plants, we followed the development of *Triticum* (wheat), *Helianthus annus minimus* (little sunflower), *Pisum sativum* (pea), and *Vicia X hybrida* hort, during a vegetation cycle. After the harvest, for each plant, the quantities of chlorophyll and carotenoidic pigments and of trace- and macroelements were determined. **Results** : It was proved that, in the presence of polymer blends, the plants do not suffer morphological and physiological modifications, the products released in the culture soil being not toxic for the plants growth. **Key words** : POLYVINYL CHLORIDE, HYDROLYZED COLLAGEN, BIODEGRADATION, ASSIMILATORY PIGMENTS, TRACEELEMENTS, MACROELEMENTS

Polyvinyl chloride (IUPAC Polychloroethene), commonly abbreviated PVC, is a widely used thermoplastic polymer. In terms of revenue generated, it is one of the most valuable products of the chemical industry (1). Around the world, over 50% of PVC manufactured is used in construction. As a building material, PVC is cheap, durable, and easy to assemble. In recent years, PVC has been replacing traditional building materials such as wood, concrete and clay, in many areas. Despite the fact that PVC production negatively affects the natural environment and human health, it is still widely used. There are other many uses for PVC. As a hard plastic, it is used as vinyl siding, magnetic stripe cards, window profiles, gramophone records (which is the source of the term *vinyl records*), pipe, plumbing and conduit fixtures. The material is often used in Plastic Pressure Pipe Systems for pipelines in the water and sewer industries because of its inexpensive nature and flexibility. PVC can be made softer and more flexible by the addition of plasticizers, the most widely used being phthalates. In this form, it is used in clothing and upholstery, and to make flexible hoses and tubing, flooring, to roofing membranes, and electrical cable insulation.

Because of its excellent and varied properties, PVC is used in a number of medical devices, often coming into direct or indirect contact with critically ill patients. Virtually, all medical devices made from PVC utilize one plasticizer, di-(2-ethylhexyl)-phthalate, also known as di-octyl-phthalate, universally referred to as DEHP. It has been known for a long time that DEHP can leach out of PVC, resulting in exposure to body tissues and fluids. It has also been suspected that this DEHP has certain toxicity characteristics that could be relevant to patient well being and health under some circumstances. PVC items are pervasive in health care, one quarter of all plastic medical products is made of it. These items include blood bags, enteral feeding devices, tubing, endotracheal tubes, oxygen tents, mattress covers, packaging, basins, hemodialysis equipment, patient i.d. bracelets, bedpans, respiratory therapy products, catheters, thermal blankets, lab equipment and medical gloves. Non-medical hospital uses for PVC are found in office supplies and hospital building materials. However, the manufacture, use, and disposal of PVC pose substantial and unique environmental and human health hazards.

The bis-(2-ethylhexyl)-phthalate (DEHP) is a common plasticizer and a suspected endocrine disruptor, exuding from polyvinyl chloride. Four species of bacteria that utilize DEHP as their sole carbon source were isolated from garden soil, which readily degraded DEHP to two major products, such as 2-ethylhexanol and 1,2-benzenedicarboxylic acid (2).

In our previous papers, we developed new materials based PVC replacing a part of it or of DEHP with a natural, non-toxic polymer as hydrolyzed collagen (HC). Developing of new materials destined both for agricultural and medical uses need a carrefully characterization, especially from the point of view of toxicity and their impact on environment. Terrestrial plant growth is used for chemicals testing (3), and ecological effects of various products/materials (4).

In this paper, the behavior of plasticized PVC (pPVC) and of its blends with HC under the action of the microorganisms from soil was examined, and also the effect of the polymer, additives and their degradation products on the vegetation was established.

MATERIAL AND METHOD

Material

Blends of pPVC/HC, with or without compatibilizing agents (ethylene-propylene copolymers grafted with maleic anhydride (EPMA)), were buried in the culture soil of some plants. For some samples we realized, before the soil burial test, an irradiation with UV rays (for 30 h, at a power of 30 W).

Test of terrestrial plants growth

The soil arises from a region without a lot of pollution, its initial pH being comprised between 6.5 and 7. Using this test, we followed the development of: *Helianthus annus minimus* (little sunflower), *Triticum* (wheat), *Pisum sativum* (pea), sunflower and *Vicia X hybrida hort*, during a vegetation cycle. After the harvest, for each plant, the quantities of chlorophyll and carotenoidic pigments and of microelements were determined. For determining the quantity of these pigments in the vegetative material, these ones were extracted with acetone and, then they were determined by UV spectroscopy, using a SPEKOL spectrophotometer. The extinctions of the extract for wavelengths of 440.5 nm, 662 nm and 664 nm were determined (5). The quantity of pigments in the sample were calculated using the following relations:

Clorophyll a (mg) = $(E_{662} \text{ x } 9{,}78) - (E_{664} \text{ x } 0{,}99)$

Clorophyll b (mg) = $(E_{664} \text{ x } 21{,}4) - (E_{662} \text{ x } 4{,}65)$

Carotenoidic pigments (mg) = $(E_{440,5} \text{ x } 4{,}69) - ((\text{chlorophyls a} + \text{b}) \text{ x } 0{,}267)$

For evaluation of the content in micro- and macroelements, the plants were burned and, after that, the quantity of ash is determined. The ash is solubilized with clorhydric acid and then, from the obtained solution, the elements are determined by atomic spectroscopy, using an AAS1N Carl Zeiss spectrophotometer. For the determination of one element, the corresponding lamp is used, adjusting the wavelength for which the absorption is maximum. Previously, the standard curve is drawn, using solutions of known concentrations.

The biodegradability tests for samples buried in the culture soil of several plants were followed by: determination of the weight loss, and the determination of the content in pigments and micro- and macroelements.

RESULTS AND DISCUSSION

Evolution of three different plants (*Helianthus annus minimus* (little suflower), *Triticum* (wheat) and *Pisum Sativum* (pea)) up to fructify was followed, in order to comparatively study the influence of the pPVC/HC blends buried in their culture soil and of the possible products released in the soil during a growth cycle.

Even at the beginning of the degradation process, differences regarding the germination of the seeds were observed, although these ones were burried at the same deep in the same quantity of soil. The conclusions on the plants growing (tab. I) can be summarized as follows:

- the best germination and development, after one month, was observed for the wheat and the sunflower grown in the presence of pPVC77 sample;
- some plants develop much better than the reference sample (the sample without a polymer system burried in its culture soil); these ones are, generally, those grown in the presence of polymer blends with a high content in HC. The increase of the HC content favors the growth and the development of the plants, probably due to the fact that, after the release in the soil, the nitrogen is assimilable in the plants. The increase of the HC content up to 40 wt% positively favors the germination and the development of the wheat, while for the pea this favorable percentage is higher than 30 wt%.
- the presence of EPMA 1820 presents unfavorable influences on the wheat and on the pea, but it is appropriate for the sunflower. EPMA 1803 positively actions on the wheat and on the pea.
- the pH of the soil attains values of 5-6 (slightly acid), indicating the beginning of the biodegradation processes.

The samples were burried on March, 18. The wheat and the pea reached their maturity and the harvest took place on June, 18. The physiological state of the plants was

TABLE I

The height of the studied plants, at different moments of their growth

Sample	Height of the plants after four days (cm)			Height of the plants after two weeks (cm)		
	Triticum	*Helianthus annus minimus*	*Pisum sativum*	*Triticum*	*Helianthus annus minimus*	*Pisum sativum*
Binary blends						
pPVC 56	2.3		*	17	14.5	21
pPVC 56, UV			1.2	19	14.5	35
pPVC 56/5 HC	1.5		*	16	15	26
pPVC 56 /5 HC, UV	1.2		1.2	18	18	32
pPVC 56/20 HC	3.2	1.3	3 *	17	14	9.5
pPVC 56/20 HC, UV	1.6		1.2	18.5	16	39
pPVC 56/30 HC	*		1	20	15	18
pPVC 56/30 HC, UV	2.2		1	23	16	30
pPVC 56/40 HC	2.6		*	15	14.5	20
pPVC 56/40 HC, UV	1.8		1.5	20.5	17	40
pPVC 56/50 HC	1.4		1	8	10	20
pPVC 56/50 HC, UV			0.8	9	13	30
pPVC 56/60 HC	1.7		*	18.5	12.7	17.5
pPVC 56/60 HC, UV	1		1.6	20	17	35.5

Sample	Height of the plants after four days (cm)			Height of the plants after two weeks (cm)		
	Triticum	*Helianthus annus minimus*	*Pisum sativum*	*Triticum*	*Helianthus annus minimus*	*Pisum sativum*
Blends with compatibilizers						
pPVC 56/20 HC /EPMA 1803-5	1		1.6	16	14	20
pPVC 56/20 HC /EPMA 1803-5, UV	0.5		1	17	15	33
pPVC 56/30 HC /EPMA 1803-5	1		1.6	16.5	9	24
pPVC 56/30 HC /EPMA 1803-5, UV	2.1		0.6	17.5	15.5	31
pPVC 56/40 HC / EPMA 1803-10	2.2		1	17.5	13	18.5
pPVC 56/40 HC/ EPMA 1803-10, UV	1.5		1	23	16.5	32.5
pPVC 56/50 HC /EPMA 1803-15	1		*	15	12.5	17
pPVC 56/50 HC /EPMA 1803-15, UV	1.7			20	15	33.5
pPVC 56/60 HC /EPMA 1803-15	1		4	14	6.5	19.3
pPVC 56/60 EPMA 1806-15, UV	1.4		1.4	20	16	34
pPVC 56/20 HC /EPMA 1820-5	1.2		1	18	11	20.5
pPVC 56/20 HC /EPMA 1820-5, UV	1.1		1.6	20.5	13	33
pPVC 56/30 HC /EPMA 1820-5	1	*	1.4	15.5	10.5	16
pPVC 56/30 HC/ EPMA 1820-5, UV			1	15	13	32
pPVC 56/40 HC /EPMA 1820-40	6	0.4	1	16	15	18
pPVC 56/40 HC /EPMA 1820-40, UV		*	0.8	19.5	16	34
pPVC 56/50 HC /EPMA 1820-15	1.7	*	*	14.5	14.5	22
pPVC 56/50 HC /EPMA 1820-15, UV			0.8	21.5	15	30
pPVC 56/60 HC /EPMA 1820-15	1.2		0.6	15	19	16.5
pPVC 56/60 HC /EPMA 1820-15, UV			0.5	16	14	34
pPVC 77 HC	2.2		2	15	10	26
pPVC 77 HC, UV	0.5		0.4	18	11	31
pPVC 77/5 HC	3		1	17.5	12	28
pPVC 77/5 HC, UV	0.3			18	13.5	
pPVC 77/20 HC	2.6		4	17	12	22
pPVC 77/20 HC, UV			1	19	12.5	33

*the plant starts to appear, but its height can not be measured

assessed by determining the content in pigments and microelements (tab. II-V).

From the data presented in tables II-V, it could be concluded that:

- the content in chlorophyll pigments for the wheat increases in the presence of the polymer blends, while the content in carotenoidic pigments decreases. In the case of *Vicia X hybrida* hort, an increase of the quantity of chlorophyll and carotenoidic pigments is observed for the plant grown in the presence of polymeric systems.

TABLE II

The content in chlorophyll and carotenoidic pigments for the wheat grown in the presence of PVC/HC blends

Sample	Chlorophyll A (mg/1 g dry substance)	Chlorophyll B (mg/1 g dry substance)	Carotenoidic pigments (mg/g dry substance)
Reference sample	0.1196	0.2571	0.1023
pPVC 56	0.0542	0.1207	0.0764
pPVC 56, UV	0.1636	0.3408	0.0940
pPVC / 20 HC	0.1316	0.2566	0.0077
pPVC 56/20 HC/EPMA 1803-5	0.0937	0.1961	0.0668
pPVC 56/20 HC/EPMA 1803-5, UV	0.2317	0.4183	0.0199
pPVC / 50 HC	0.2950	0.5960	0.0634
pPVC / 50 HC	0.1990	0.3501	0.0445

TABLE III

The content in chlorophyll and carotenoidic pigments for Vicia Hybrida X *hort* grown in the presence of PVC/HC blends

Sample	Chlorophyll A (mg/1 g dry substance)	Chlorophyll B (mg/1 g dry substance)	Carotenoidic pigments (mg/g dry substance)
Reference sample	0.0269	0.0396	0.0.0990
pPVC 56	0.0562	0.0779	0.1700
pPVC 56, UV	0.0330	0.0628	0.1092
pPVC / 20 HC	0.8485	1.5587	0.0140
pPVC 56/20 HC/EPMA 1803-5	0.0220	0.0365	0.0805
pPVC 56/20 HC/EPMA 1803-5, UV	0.0889	0.1461	0.1260
pPVC / 50 HC	0.0332	0.0575	0.0813
pPVC / 50 HC, UV	0.1973	0.3876	0.0610

pPVC 56 pPVC56/50HC/10 EPMA pPVC77

Fig. 1. Aspect of the samples after three months of soil burial

- the content in micro- and macroelements significantly decreases for the plants grown in the presence of polymer blends, maybe due to the reactions between some metals with HCl emitted during the biodegradation.

The analysis evidence that the plants suffered morphological and physiological modifications when they were grown in the presence of plasticized polyvinyl chloride and of its blends with DEHP and/or hydrolyzed collagen.

On the other hand, the polymer samples degrade after soil burial, due to both the

TABLE IV

Quantities of micro- and macroelements for the wheat (expressed in mg/100 g ash)

Sample	Ash (g)	Microelements					Macroelements			
		Zn	Cu	Fe	Mn	Ni	Ca	Mg	Na	K
Reference	0.1144	4.81	24.91	30.16	0.0	0.0	294.58	45.89	284.09	273.16
pPVC 56, UV	0.0837	6.57	17.92	294.50	6.57	20.31	3452.81	179.21	167.26	77.66
pPVC/ 20 HC	0.0107	37.38	663.55	1691.59	37.38	84.11	14345.79	2056.07	5046.73	8177.57
pPVC 56/20 HC, UV	0.0790	5.06	22.15	13.9	1.90	6.96	508.86	79.11	84.44	53.80
pPVC 56/50 HC	0.0937	4.27	50.16	156.35	3.20	7.5	141.94	37.35	112.06	160.08
pPVC 56/50 HC, UV	1.0321	0.39	0.53	6.59	0.14	0.19	6.98	0.68	2.42	1.45

TABLE V

Quantities of micro and macroelements for the peas (expressed in mg/100 g ash)

Sample	Ash (g)	Microelements					Macroelements			
		Zn	Cu	Fe	Mn	Ni	Ca	Mg	Na	K
Reference	0.0099	171.7	70.7	6333.3	106.1	424.2	4060.6	959.6	2020.2	1767.7
pPVC 56, UV	0.0061	188.5	245.9	1975.4	24.6	114.8	4426.2	196.7	409.8	0.0
pPVC 56/20 HC	0.1213	14.0	17.3	15.7	1.2	0.0	165.7	35.0	136.0	564.7
pPVC 56/20 HC/EPMA1803	0.082	11.6	16.5	67.1	1.8	0.0	317.8	78.9	152.4	228.7
pPVC 56/20 HC, UV	0.0932	22.5	18.8	97.6	5.9	3.8	952.3	257.5	134.1	1005.9
pPVC 56/50 HC	0.0911	10.4	11.5	60.4	0.0	0.0	186.6	20.31	74.1	63.1
pPVC 56/50 HC, UV	0.0226	88.5	126.1	48.7	0.0	0.0	1681.4	553.1	265.5	188.1

TABLE VI

Weight losses for PVC based blends after three months of soil burial

Sample	Δm (%)
pPVC 56	0
pPVC 56, UV	0
pPVC 56/5 HC	2.97
pPVC 56/5 HC, UV	2.62
pPVC 56/20 HC	12.77
pPVC 56/50 HC	13.83
pPVC 56/60 HC	21.57
pPVC 56/60 HC, UV	25.67
pPVC 56/20 HC/EPMA 1803-5	14.27
pPVC 56/20 HC/EPMA 1803-5, UV	15.64
pPVC 56/30 HC/EPMA 1803-5	25.58
pPVC 56/20 HC/EPMA 1820-5	16.66
pPVC 56/30 HC/EPMA 1820-5	10.16
pPVC 56/30 HC/EPMA 1820-5, UV	19.87
pPVC 56/50 HC/EPMA 1820-15	20.06
pPVC 56/50 HC/EPMA 1820-15,UV	19.31
pPVC 56/40 HC/EPMA 1820-40,UV	10.65
pPVC 56/60 HC/EPMA 1820-15	21.76
pPVC 77/5 HC	4.79
pPVC 77/20 HC	13.75

environment conditions and, especially, due to the microorganisms from the soil. The observed modifications are however much lower than those obtained for the degradation in active sludge, behavior evidenced also from their aspect (fig. 1) and from the weight losses after three months (tab. VI).

CONCLUSIONS

PVC/HC blends are degraded with a significant rate by soil burial. Some modifications of the plants were observed (such as : the content in chlorophyll and carotenoidic pigments, and the quantity in micro- and macroelements), even if the general aspect during their growth was similar to that of the reference plant (the plant without polymer in its soil). It was established that, in the presence of polymeric blends, the plants suffer only minor morphological and physiological modifications, the released products in the culture soil being not toxic for the plants growth.

REFERENCES

1. Wypych G. *Handbook of Material Weathering*. 4th ed. ChemTech Publ Books, CD-ROMs Databases, 2008.
2. Nakamiya K, Hashimoto S, Ito H, Edmonds JS, Yasuhara A, Morita M. Microbial treatment of bis (2-ethylhexyl) phthalate in polyvinyl chloride with isolated bacteria. *J Biosci Bioeng* 2005 ; 99 (2) : 115-119.
3. *** Test No. 208 : Terrestrial Plant Test : Seedling emergence and seedling growth test. *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals* 198 ; 1 (2) : 1-21.
4. *** Ecological effects test guidelines OPPTS 850. 4150 Terrestrial Plant Toxicity, Tier I (Vegetative Vigor) United States Environmental Protection Agency. http : //www.epa.gov/opptsfrs/publications/ OPPTS_Harmonized/850_Ecological_Effects_Test_Guidelines/Drafts/850-4150.pdf.
5. Boldor O, Raianu Trifu M. *Fiziologia Plantelor – Lucrări Practice*. Bucureşti : Ed. Didactică şi Pedagogică, 1983.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

PHARMACOGNOSTIC RESEARCH ON *VIOLA TRICOLOR* L. (*VIOLACEAE*)

Anca Toiu[1], E. Muntean[2], Ilioara Oniga[1], O. Voştinaru[3], M. Tămaş[4]
"I. Haţieganu" University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca
School of Pharmacy
1. Department of Pharmacognosy-Phytotherapy
3. Department of Pharmacology
4. Department of Pharmaceutical Botany
University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj- Napoca
School of Agronomy
2. Department of Analytical Chemistry and Instrumental Analysis

PHARMACOGNOSTIC RESEARCH ON *VIOLA TRICOLOR* L. (*VIOLACEAE*) (Abstract): In this study we analyzed the chemical composition and we evaluated the diuretic activity of aerial parts of *V. tricolor* L. **Material and methods**: For saponins and mucilages we have performed gravimetric methods, whereas for carotenoids, spectrophotometric determinations and HPLC analysis were performed. We studied the diuretic activity of tincture, using furosemide as the reference drug in male Wistar-Bratislava rats. **Results**: We established the content in saponins (5.98%), mucilages (14.20%) and total carotenoids (18.46 mg/100 g). In fresh vegetal drug we have determined by HPLC 8 carotenoids: violaxanthin (352 μg/100 g), antheraxanthin (711 μg/100 g), lutein (1575 μg/100 g), zeaxanthin (1488 μg/100g), α-cryptoxanthin (66 μg/100 g), β-carotene 5,6-epoxide (133 μg/100 g), β-carotene (1678 μg/100 g) and 9Z-β-carotene (312 μg/100 g). We observed a moderate diuretic effect of tincture (diuretic index 1.103, saluretic index of Na^+ 1.181, and saluretic index of K^+ 1.365). **Conclusions**: *Violae tricoloris herba* contains a high amount of saponins and mucilages and it can be recommended to complete the diuretic treatment. **Key words**: *VIOLA TRICOLOR*, SAPONINS, MUCILAGES, CAROTENOIDS, DIURETIC ACTIVITY

Viola tricolor L. (wild pansy) is very spread in spontaneous flora of Romania and it is considered one of the most important medicinal plants from its family. The aerial parts are used in traditional medicine to treat various skin conditions, bronchitis, rheumatism and as a purifying herb. Their anti-inflammatory, expectorant and diuretic properties are due to the presence of saponins, flavonoids, mucilages, salicylic derivatives, carotenoids. Anti-inflammatory properties are ascribed to salicylic derivatives, rutin and can be enhanced by saponins (1,2,3).

Violae tricoloris herba contains both O-flavonoids and C-glycosides (0.4-0.6% total flavonoids), the following ones being identified: rutoside, luteolin-7-O-glucoside, violanthin, saponarin, scoparin (3,4).

Knowing the use of *Viola tricolor* in traditional medicine as diuretic and depurative plant (properties which can be due to saponins and flavonoids), the aim of this study was to complete the pharmacognostic data on *V. tricolor* with the analyses on saponins, mucilages and carotenoids and with the evaluation of diuretic effect.

MATERIAL AND METHOD

We have analyzed the aerial parts of *V. tricolor* L. (*Violae tricoloris herba*) harvested in July 2006 from spontaneous flora of Alba county, Romania. For HPLC study of carotenoids we used fresh aerial parts, whereas for total carotenoids, saponins and mucilages content, dried and powdered aerial parts were used.

Spectrophotometric determinations were made using a spectrophotometer UV-VIS JASCO V-530.

The quantitative analysis of carotenoids was made using the method described by Britton et al. (5) and the results were expressed in β-carotene (mg/100 g). The concentration of total carotenoids was calculated using the formula:

$$\mathbf{mg\ carotenoids/100\ g = A \times V \times 1000\ /\ (A_{1cm}^{1\%} \times G)}$$

where: A= absorbance of solution at 450 nm, V= volume (=50 mL), $A_{1cm}^{1\%}$= specific absorbance of β-carotene in hexane, at λ=450 nm (=2500), G=vegetal product's mass (g).

The isolation of saponins was made by precipitation in acetone, the isolation of mucilages was made by precipitation in acidulated alcohol, and the quantitative determinations by gravimetric methods (6). The haemolytic index of vegetal product and the haemolytic index of isolated saponin were determined (6).

HPLC-PDA analysis of carotenoids was performed with an HPLC system Agilent 1100 Series, a LiChrosorb RP18 (250 x 4.6 mm) analytical column, operated at 35°C. The mobile phase was a mixture MeCN-H_2O (9 : 1) and ethyl acetate. Samples preparation: 5 g of fresh powdered vegetal product was extracted with acetone and diethylether. Detection: detector VIS at 450 nm. Authentic reference carotenoids (neoxanthin, violaxanthin, antheraxanthin, lutein, zeaxanthin, α-cryptoxanthin, β-carotene 5,6-epoxide, β-carotene and 9Z-β-carotene) were from Hoffman - La Roche.

Preparation of tincture: 10 g of powdered aerial parts of *Viola tricolor* were extracted with 100 g of ethanol 70° at room temperature, as described in Romanian Pharmacopoeia X^{th} Edition (7).

Animals: Adult male Wistar-Bratislava rats weighing 100 to 150 g, 8-12 weeks of age, supplied by the Animal Breeding Facility of the University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca, Romania, were housed

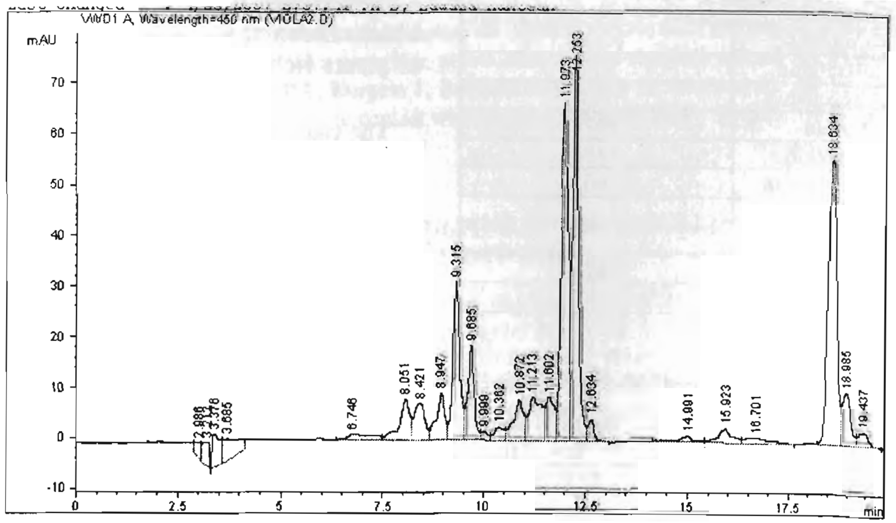


Fig. 1. HPLC chromatogram of carotenoids from *Viola tricolor*

in temperature-controlled rooms. Experimental tests and animal treatments were conducted in accordance with the legislation governing experimentation on animals. Three groups were used (10 animals per group): one control group with distilled water (1 mL/100 g), a group with *Violae tricoloris herba* tincture (1 mL/100 g) and a group with the reference drug, furosemide (50 mg/kg). The urine volume was expressed in mL/kg b.w./24h. We calculated diuretic index as ratio between treated animals diuresis and control animal diuresis. The concentrations of sodium and potassium were determined by a potentiometric method and expressed in mmol/ kg b.w./24h. We calculated saluretic index of Na^+ and saluretic index of K^+ as ratio between treated animals concentration and control animal concentration of these ions.

RESULTS AND DISCUSSION

The HPLC chromatogram of carotenoids from the aerial parts of *Viola tricolor* is presented (fig. 1). The identified carotenoids and their concentrations (expressed in µg/100 g) are presented (tab. I).

TABLE I

The concentrations (µg/100 g) of identified carotenoids by HPLC

Compound	Carotenoids (µg/100 g)
Neoxanthin	traces
Violaxanthin	352
Antheraxanthin	711
Lutein	**1575**
Zeaxanthin	1488
α-cryptoxanthin	66
β-carotene 5,6-epoxide	133
β-carotene	**1678**
9Z-β-carotene	312

β-carotene (1678 µg/100 g) and lutein (1575 µg/100 g) were the major carotenoids. By spectrophotometric method we observed that *Violae tricoloris herba* contains a small amount of total carotenoids (18.46 mg/100 g) (tab. II).

Saponins and mucilages are the majoritary active principles, with concentrations of 5.98%, and respectively 14.20% (tab. II).

The haemolytic index of *Violae declinatae herba* was 100, and the haemolytic index of isolated saponin was 4000.

The results of diuretic activity evaluation for *Viola tricolor* tincture are presented (tab. III). We observed a moderate diuretic activity for *V. tricoloris herba* tincture, the diuretic and saluretic indexes being inferior to furosemide group.

CONCLUSIONS

We determined for the first time the concentrations of carotenoids (total carotenoids as well as the individual ones) from *Violae tricoloris herba* by HPLC and spectrophotometric method.

The quantitative determinations showed a high amount of saponins and mucilages, which allows the inclusion into the group of plants rich in these active principles.

TABLE II

The concentrations of total carotenoids, saponins and mucilages

Compounds	Concentration
Total carotenoids	18.46 mg/100 g
Saponins	5.98%
Mucilages	14.20%

TABLE III

Evaluation of diuretic activity for *Viola tricolor* tincture

Group no.	Treatment	Diuresis (mL/kg b.w./24h)	Diuretic index	Saluretic index Na^+	Saluretic index K^+
1.	Distilled water	28.973±4.948	-	-	-
2.	Furosemide	50.089±3.540	1.728	1.871	2.305
3.	Tincture	31.971±6.312	1.103	1.181	1.365

Though it is used in traditional medicine for diuretic properties, that can be ascribed to the saponins (present in high concentration, with a small haemolytic activity), our results showed a moderate diuretic activity after oral administration of vegetal drug's tincture. *Violae tricoloris herba* can be recommended to complete the diuretic treatment.

REFERENCES

1. Wichtl M. *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*. Stuttgart: Ed. Medpharm, 1994, 527-529.
2. Schilcher H. *Phytotherapy in Paediatrics. Handbook for Physicians and Pharmacists*. Stuttgart: Medpharm Scientific Publ, 1997, 499-500.
3. Chevallier A. *The Encyclopedia of Medicinal Plants*. New York: Ed. D.K. Publishing Inc, 1996, 280.
4. Wagner H, Bladt S. *Plant Drug Analysis*. Berlin: Springer Verlag, 1996, 203-229.
5. Britton G, Liaaen-Jjensen S, Pfander H editors. *Carotenoids. Vol. 1B: Spectroscopy*. Basel: Birkhauser Verlag, 1995, 13-62.
6. Popescu H, Grecu L, Cioacă C, Roşca M. *Analiza chimică a produselor naturale medicinale*. Cluj-Napoca: Litografia I.M.F. Cluj-Napoca, 1981, 6, 44-45.
7. *** *Farmacopeea Română. ed. a X-a*. Bucureşti: Ed. Medicală, 1993, 921-922.

NOUTĂŢI

EXPANSIUNEA VOLUMETRICĂ A CONURILOR DE GUTAPERCĂ SUB ACŢIUNEA EUGENOLULUI DIN SIGILANŢII ENDODONTICI

Utilizarea conurilor de gutapercă în asociere cu un sigilant andodontic care conţine un ameste de tip zinc oxid-eugenol reprezintă una dintre tehnicile tradiţionale cele mai utilizate în endodonţie. În ciuda introducerii unor materiale de sigilare moderne considerate mai sigure şi mai eficiente pe termen lung, cimenturile endodontice care conţin eugenol continuă să fie preferate de numeroşi practicieni. Un argument nou în favoarea utilizării acestor tipuri de materiale este demonstrarea expansiunii volumetrice a conurilor de gutapercă în prezenţa eugenolului. Compararea expansiunii volumetrice a conurilor de gutapercă stocate în ser fiziologic respectiv eugenol, a arătat o creştere semnificativă în volum a gutapercăi păstrate în eugenol, după 24 de ore, 7 zile, respectiv 30 de zile. Din acest motiv, pare probabil ca materialele de sigilare endodontică ce conţin eugenol, să contribuie la creşterea volumetrică a conurilor, ameliorând în timp sigilarea apicală realizată prin obturaţia radiculară (Michaud RA, Burgess J, Barfield RD, Cakir D, McNeal SF, Eleazer PD. Volumetric expansion of gutta-percha in contact with eugenol. *J Endod* 2008; 34 (12): 1528-1532).

Gianina Iovan

REZISTENŢA LA CHINOLONE A TULPINILOR DE SHIGELLA LA TURIŞTI REÎNTORŞI DIN INDIA

Din 200 de tulpini de *Shigella* spp., izolate de la pacienţi cu diareea turiştilor, 12 izolate (4 izolate în 1995-2000 şi 8 din 2001-2004) au prezentat rezistenţă la chinolone. Aceste izolate rezistente au doar o substituţie în *Gyr*A la un aminoacid. Rezistenţa la chinolone este o problemă în creştere la tulpinile de *Shigella* spp. producătoare de diareea călătorului, şi în mod particular a izolatelor producătoare de diaree la turişti reîntorşi din India (Mensa L, Marco F, Vila J, Gascon J, Ruiz J. Quinolone resistance among *Shigella* spp. isolated from travellers returning from India. *Clin Microbiol Infect* 2008: 14 (3): 279-281).

Cristina Tuchiluş

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

FARMACIE ARTICOLE ORIGINALE

DETERMINAREA SPECTROFOTOMETRICĂ ÎN VIZIBIL A PIROXICAMULUI FOLOSIND CA REACTIV FERICIANURA FERICĂ

Mariana Mândrescu[1,3], A.F. Şpac[2], V. Dorneanu[3]
1. Institutul Naţional de Cercetare-Dezvoltare pentru Microbiologie şi Imunologie „I. Cantacuzino” filiala Iaşi
Universitatea de Medicină şi Farmacie “Gr.T. Popa” Iaşi
Facultatea de Farmacie
2. Disciplina de Chimie-Fizică
3. Disciplina de Chimie Analitică

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION IN VISIBLE OF PIROXICAM USING FERRIC FERRICYANIDE AS REAGENT (Abstract): For the piroxicam determination (Nonsteroidal Antiinflammatory Drug - NSAID) it was developed a spectrophotometric method, based on the reduction of ferric ferricyanide into ferro-ferricyanide (Prussian Blue), whith maximum of absorbance at 760 nm. **Material and method**: The practical working conditions were established. In the 0.2 ÷ 2.0 µg/mL range of piroxicam concentration, were used the 2 mL of ferric ferricyanide 1 mL of 2N hydrocloric acid. To delay the flocculation of Prussian Blue it was to add a 1 mL solution of sodium lauryl sulfate 1%. After 15 minutes read the absorbance at 760 nm. The developed method was validated. **Results**: The method showed a good linearity in the range of 0.2 ÷ 2.0 µg/mL (the correlation coefficient r = 0.9995). The detection limit (LD) was 0.056 µg/mL and the quantification limit (LQ) was 0.18 µg/mL. There were established the system precision (RSD = 0.25%), the precison (RSD = 1.91%) and the accuracy-recovery in the range 98.21 ÷ 104.92% with a mean recovery of 100.91%. **Conclusion**: The experimental results demonstrated a good sensibility. The specific absorptivity for this method is $A^{1\%}_{1cm,760nm} = 4374$ much higher than piroxicam in UV ($A^{1\%}_{1cm,330nm} = 296$).

Key words: PIROXICAM, SPECTROPHOTOMETRIC METHDOD, VALIDATION

Piroxicamul este un antiinflamator nesteroidian (AINS), analgezic şi antipiretic, din generaţia a II-a care combate agregarea plachetelor sanguine. Este indicat în terapia simptomatică a afecţiunilor reumatice inflamatorii dureroase şi degenerative, în artrita reumatoidă, osteoartrită lombalgie etc.

Piroxicamul se poate determina cantitativ prin metode spectrofotometrice fie direct, fie apelând la o serie de reacţii de culoare (1).

Lucrarea de faţă prezintă punerea la punct şi validarea unei metode spectrofotometrice de determinare a piroxicamului în vizibil.

MATERIAL ŞI METODĂ

Reactivi şi aparatură

- Soluţia primară (1 mg/mL) de piroxicam a fost preparată în metanol prin dizolvarea pe baie de ultrasunete a unei cantităţi de 100 mg piroxicam (substanţă de referinţă, Pfizer&Co, puritate 99,99%) în balon cotat de 100 mL;
- Soluţia stoc (10 µg/mL) s-a obţinut din soluţia primară prin diluţie 1/100 cu metanol;
- Soluţiile de lucru de piroxicam s-au obţinut din soluţia stoc prin diluare cu metanol până la concentraţii cuprinse între 0,2-2 µg/mL;
- Reactivul fericianură ferică se obţine prin amestecarea soluţiei apoase de clorură ferică 0,09% (Merck) şi a soluţiei apoase de fericianură de potasiu 0,06% (Merck) în proporţie de 1 : 1. Soluţia se utilizează imediat după preparare (2);
- Soluţii apoase de acid clorhidric de concentraţii între 0,1N şi 4N;
- Soluţie apoasă de lauril sulfat de sodiu 1%;
- Balanţa analitică Kern 770;
- Spectrofotometru UV-VIS Hewlett Packard 8453.

Principiul metodei

Piroxicamul reduce fericianura ferică, în mediu acid la ferocianura ferică (Albastru de Prusia), ce prezintă un maxim de absorbţie la 760 nm, proporţional cu concentraţia în piroxicam.

Stabilirea lungimii de undă de detecţie: S-a preparat o probă de piroxicam de concentraţie 1,8 µg/mL. Produsul de reacţie obţinut, se supune analizei spectrofotometrice în UV-VIS, după 15 minute de la preparare, înregistrându-se spectrul de absorbţie pe intervalul 300-1100 nm, faţă de un martor preparat în aceleaşi condiţii, în cuvă de 1 cm.

Stabilirea condiţiilor optime de lucru

S-a lucrat pe două probe de piroxicam de 0,2 µg/mL şi 2,0 µg/mL, în 1 mL probă, (concentraţia minimă şi maximă a domeniului studiat) şi s-au variat o serie de parametri. Se măsoară absorbanţa la $\lambda_{max} = 760$ nm, faţă de un martor preparat în aceleaşi condiţii.

S-au stabilit următorii parametri:

- *Volumul optim de reactiv* - s-au adăugat volume diferite de soluţie fericianură ferică variind volumul de la 0,1 mL până la 4 mL menţinând ceilalţi parametri constanţi.
- *Aciditatea necesară reacţiei* - s-a lucrat cu soluţii de acid clorhidric de la 0,1N până la 4N.
- *Stabilitatea probelor* - se măsoară absorbanţa celor două concentraţii de piroxicam după diferite perioade de timp, de la 5 până la 60 minute.

Mod de lucru

La un volum de 1 mL probă sau soluţie etalon conţinând 0,2 ÷ 2,0 µg/mL piroxicam se adaugă 2 mL soluţie fericianură ferică proaspăt preparată, 1 mL soluţie acid clorhidric 2N şi 1 mL soluţie lauril sulfat de sodiu 1%. După 15 minute se măsoară absorbanţa la lungimea de undă de 760 nm în cuvă de 1 cm, faţă de un martor preparat în aceleaşi condiţii.

Validarea metodei

S-a urmărit: determinarea linearităţii, a limitei de detecţie, a limitei de cuantificare, a preciziei (precizia sistemului şi precizia metodei) şi a exactităţii (3,4,5,6)

Determinarea linearităţii: Au fost preparate 4 seturi de soluţii de piroxicam în domeniul de concentraţie 1,0 ÷ 10 µg/probă, respectiv 0,2 ÷ 2,0 µg/mL. Soluţiile astfel obţinute au fost prelucrate în modul descris. Se măsoară absorbanţa fiecărei probe faţă de un martor obţinut în aceleaşi condiţii, la lungimea de undă de 760 nm. Datele obţinute s-au prelucrat prin regresie matematică şi s-a trasat curba de calibrare

Metoda se consideră lineară dacă coeficientul de corelaţie este mai mare decât 0,998

Limita de detecţie şi cuantificare s-a calculat utilizând formulele (A) şi (B) (3,4):

$$LD = \frac{3 \times SE}{Panta} \qquad (A)$$

$$LC = \frac{10 \cdot SE}{Panta} \qquad (B)$$

unde SE este eroarea standard a dreptei de regresie.

Precizia: Pentru determinarea preciziei s-a determinat precizia sistemului şi precizia metodei de determinare a piroxicamului.

Pentru a evalua precizia sistemului s-au efectuat un număr de 10 determinări pentru aceeaşi probă (1 μg/mL), în aceleaşi condiţii experimentale, măsurându-se valorile absorbanţelor. S-a calculat valoarea medie, deviaţia standard şi deviaţia standard relativă.

Pentru determinarea preciziei metodei de lucru, au fost analizate probe într-un domeniu de concentraţie de ± 25% faţă de concentraţia de interes ce are valoarea de 1,0 μg/mL. (0,8, 1,0, 1,2 μg/mL). Pentru fiecare valoare a concentraţiei au fost efectuate un număr de trei determinări. Au fost efectuate două seturi de determinări, în zile diferite, pentru a evalua şi repetabilitatea determinărilor.

Precizia se exprimă prin deviaţia standard relativă (RSD) a valorilor obţinute care nu trebuie să fie mai mare de 2%.

Se calculează intervalul de încredere pentru fiecare valoare individuală utilizând formula (C) (precizie P=95% şi 8 grade de libertate (4,5).

$\bar{x}-(t\cdot SD)<\mu<\bar{x}+(t\cdot SD)$ (C)

$\bar{x}$ = regăsire medie, t = 2,31, SD = deviaţia standard

Exactitatea : Pentru evaluarea exactităţii metodei au fost analizate probe preparate prin metoda adaosului. Astfel într-o soluţie ce conţine o cantitate cunoscută de standard (0,2 mg/mL), se introduc volume de soluţie de piroxicam astfel încât să se obţină concentraţii de 0,8, 1,0, 1,2 μg/mL. Pentru fiecare valoare a concentraţiei au fost efectuate un număr de trei determinări.

Exactitatea metodei se exprimă prin procentul de regăsire a cantităţii de substanţă luată în studiu care trebuie să fie in domeniul 95 ÷ 105%.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Din analiza spectrului de absorbţie al produsului de reacţie se constată că acesta prezintă un maxim de absorbţie la lungimea de undă de 760 nm şi are o absorbanţă specifică $A_{1cm,760nm}^{1\%}=4374$ comparativ cu a piroxicamului în metanol $A_{1cm,330nm}^{1\%}=296$ (fig. 1).

Pentru punerea la punct a metodei spectrofotometrice de determinare a piroxicamului s-a stabilit că volumul optim de soluţie de fericianură ferică pentru domeniul de concentraţie 0,2 ÷ 2,0 μg/mL este de 2 mL. De asemenea s-a stabilit că aciditatea necesară reacţiei se realizează prin adăugarea unui volum de 1 mL soluţie acid clorhidric 2N. Pentru a împiedica floculare a se adaugă 1 mL soluţie lauril sulfat de sodiu 1%.

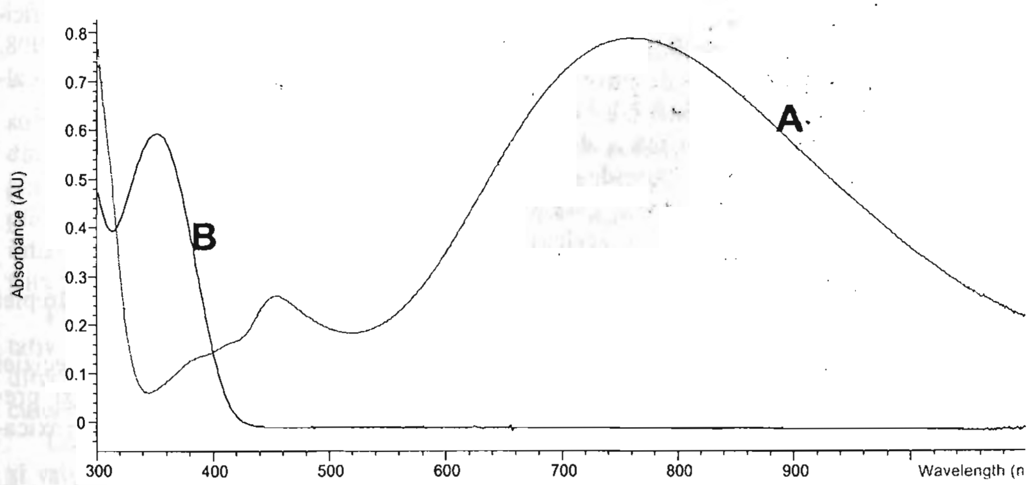


Fig. 1. Spectre de absorbţie. A = Spectrul produsului de reacţie 1,8 μg/mL (λ_{max}=760 nm) B = Spectrul piroxicamului în metanol 20 μg/mL (λ_{max}=330 nm)

Validarea metodei

Linearitatea: S-a studiat linearitatea pentru domeniul de concentraţie 0,2 ÷ 2 μg/mL. Datele obţinute sunt evaluate statistic (tab. I), iar prelucrarea acestora conduce la obţinerea dreptei de calibrare (fig. 2).

Conform datelor experimentale obţinute metoda de determinare a piroxicamului prin spectrofotometrie în vizibil este lineară pe domeniul studiat (0,2 ÷ 2,0 mg/mL), coeficientul de corelaţie fiind r =0,9995.

După evaluarea statistică a linearităţii metodei s-au calculat limita de detecţie LD şi limia de cuantificare LC :

$$LD=\frac{3\times0{,}007076}{0{,}3797}=0{,}056\,\mu g/\text{ml}$$

$$LC=\frac{10\times0{,}007076}{0{,}3797}=0{,}18\,\mu g/ml$$

Precizia

Precizia sistemului : Pentru a evalua precizia sistemului s-a calculat deviaţia standard relativă.

Conform datelor obţinute (tab. II) în urma prelucrării statistice, deviaţia standard relativă (RSD) are valoarea 0,2478%, valoare ce demonstrează o precizie bună a sistemului.

Precizia metodei : Din valorile experimentale ale absorbanţei măsurate se calculează concentraţia probei utilizând ecuaţia dreptei de regresie (tab. III).

Atât pentru fiecare set de date separat, cât şi pentru ambele seturi de date luate

TABELUL I

Determinarea linearităţii metodei

Conc. μg/ml	**Absorbanţa**				
	I	**II**	**III**	**IV**	**Media**
0,2	0,09554	0,08862	0,09021	0,08942	0,09095
0,4	0,16825	0,17025	0,17962	0,16246	0,17015
0,6	0,26296	0,25495	0,25342	0,27356	0,26122
0,8	0,32547	0,29278	0,32145	0,32178	0,31537
1,0	0,40239	0,41608	0,40932	0,39625	0,40601
1,2	0,46834	0,47656	0,48365	0,47392	0,47562
1,4	0,55194	0,56942	0,54368	0,55361	0,55466
1,6	0,61254	0,62845	0,63125	0,61297	0,62130
1,8	0,69724	0,6908	0,69562	0,71536	0,69976
2,0	0,78928	0,78266	0,77365	0,79056	0,78404
Date statistice: Coeficient de corelaţie r = 0,9995; **Coeficient de regresie** r^2 = 0,9991 **Eroare standard** = 0,007076; **Intercept** = 0,0200; **Panta** = 0,3797					

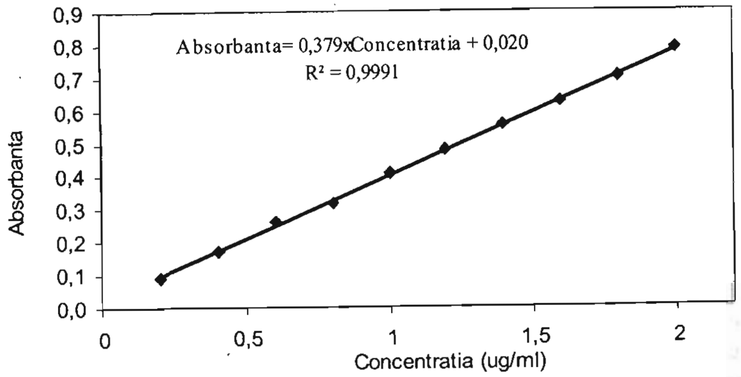


Fig. 2. Dreapta de calibrare

TABELUL II

Precizia sistemului

Nr. det.	Absorbanță	Nr. det.	Absorbanță	Date statistice
1	0,41235	6	0,41478	**Medie** = 0,4135 **SD** = 0,0010 **RSD** = 0,2478%
2	0,41356	7	0,41536	
3	0,41305	8	0,41215	
4	0,41396	9	0,41265	
5	0,41325	10	0,41362	

TABELUL III

Precizia metodei

(µg/ml) teoretic	Setul I			Setul II		
	Absorbanta	(µg/ml) calculat	Regăsire %	Absorbanta	(µg/ml) calculat	Regăsire %
0,8	0,31568	0,7782	97,27	0,32056	0,7910	98,88
	0,3253	0,8035	100,44	0,32567	0,8045	100,56
	0,31965	0,7886	98,58	0,31901	0,7869	98,37
1,0	0,41035	1,0274	102,74	0,41053	1,0279	102,79
	0,39523	0,9876	98,76	0,40892	1,0237	102,37
	0,40963	1,0255	102,55	0,39285	0,9814	98,14
1,2	0,48153	1,2149	101,24	0,47035	1,1854	98,79
	0,46782	1,1788	98,23	0,46821	1,1798	98,32
	0,47962	1,2098	100,82	0,48342	1,2198	101,65
Date statistice	**Medie** = 100,07% **SD** = 1,95; **RSD** =1,95 % **Interval de încredere:** 95,56÷104,58 %			**Medie** = 99,87% **SD** = 1,88; **RSD** =1,87 % **Interval de încredere**: 95,65÷104,32 %		

TABELUL IV

Acurateţea metodei de analiză

Nr. det.	µg/ml teoretic	Absorbanță	µg/probă calculat	Regăsire (%)	Date statistice
1	0,8	0,31853	0,7857	98,21	**Media** = 100,91% **Minim** = 98,21% **Maxim** = 104,92%
2		0,33082	0,8180	102,25	
3		0,32579	0,8048	100,60	
4	1,0	0,41074	1,0285	102,85	
5		0,41863	1,0492	104,92	
6		0,39965	0,9993	99,93	
7	1,2	0,46847	1,1805	98,37	
8		0,48356	1,2202	101,68	
9		0,4729	1,1921	99,34	

împreună (RSD = 1,91 %) deviaţia standard relativă (RSD) are o valoare mai mică de 2%, ceea ce demonstrează că metoda de analiză propusă este precisă.

Exactitatea

Din valorile experimentale ale absorbanţei măsurate (tab. IV) s-a calculat concentraţia probei utilizând ecuaţia dreptei de regresie.

Analizând datele din tabelul IV se observă că pe domeniul de concentraţie studiat, regăsirea medie este de 100,91 % (minim 98,21 % şi maxim 104,92 %. Aceste valori demonstrează faptul că metoda de analiză propusă este exactă.

CONCLUZII

A fost pusă la punct o metodă spectrofotometrică în vizibil a piroxicamului, prin reducerea fericianurii ferice în mediu acid la Albastru de Prusia, compus ce prezintă un maxim de absorbţie la 760 nm.

Absorbanţa specifică pentru soluţia de piroxicam în metanol şi respectiv produsul de reacţie sunt: $A^{1\%}_{1cm,350nm} = 296$, respectiv $A^{1\%}_{1cm,760nm} = 4374$. Deci prin această metodă, sensibilitatea determinării piroxicamului, creşte de aproximativ 15 de ori, comparativ cu determinarea piroxicamului în ultraviolet.

S–au stabilit parametrii optimi de reacţie: lungimea de undă pentru absorbanţa maximă (760 nm), volumul reactivului fericianură ferică (2 mL), aciditatea necesară reacţiei (se realizează prin adaugarea a 1 mL soluţie acid clorhidric 2N) şi timpul optim de măsurare a absorbanţei (30 minute).

Metoda de analiză a fost validată, stabilindu-se, linearitatea metodei (pe domeniul 0,2-2,0 µg/mL), coeficientul de corelaţie (r = 0,9995), limita de detecţie (0,056 µg/mL), limita de cuantificare (0,18 µg/mL), precizia metodei (RSD = 1,91 %) şi exactitatea metodei (regăsire medie = 100,91 %).

În concluzie, metoda de analiză propusă este simplă, uşor de executat şi foarte sensibilă. De asemenea, metoda este lineară, precisă şi exactă.

BIBLIOGRAFIE

1. Nageswara RR, Meena S, Raghuram RA. An overview of the recent developments in analytical methodologies for determination of COX-2 inhibitors in bulk drugs, pharmaceuticals and biological matrices. *J Pharm Biomed Anal* 2005 ; 39 : 349-363.
2. Pesez M, Bartos J. *Colorimetric and Fluorimetric Analysis of Organic Compound and Drugs.* New York : Marcel Dekker Inc., 1974.
3. Oprean R, Rozet E et al. *Ghid de valiadre a procedurilor analitice cantitative.* Cluj Napoca : Ed. Medicală Universitară "I. Haţieganu" 2007.
4. Roman L, Bojiţă M, Săndulescu R. *Validarea metodelor de analiză şi control.* Bucureşti : Ed. Medicală, 1998.
5. Green JM. A practical guide to analytical method validation. *Anal Chem* 1996 : 305A-309A.
6. *** US EPA : *Guidance for Methods Development and Methods Validation for the Resource Conservation and Recovery Act (RCRA) Program.* Washington DC, 1995.

NOUTĂŢI

DERIVAŢI CITOTOXICI CU STRUCTURĂ DE TIP BENZIL ŞI CUMESTAN IZOLAŢI DIN *TEPHROSIA CALOPHYLLA*

Tephrosia calophylla BEDD (*Fabaceae*) este un subarbust răspândit în regiunile sudice ale Indiei. Din rădăcinile plantei, Ganapaty et al. au izolat 3 derivaţi cu structură de tip cumestan (tephcalostanii B, C, D) şi un derivat benzilic (calophiona A). Structurile compuşilor izolaţi au fost elucidate prin spectroscopie de rezonanţă magnetică nucleară. Ganapaty et al. au studiat efectele citoxice ale compuşilor izolaţi faţă de linia celulară de macrofage de şoarece RAW, linia celulară de cancer de colon HT-29 şi faţă de o serie de protozoare (*Trypanosoma brucei rhodesiense*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Plasmodium falciparum*). Dintre compuşii izolaţi, calophiona A a dovedit activitate citotoxică semnificativă având CI_{50} = 5.00 (RAW) şi respectiv, 2, 90 µM (HT-29). Nici unul din compuşii testaţi nu a dovedit activitate antiprotozoarică. Activitatea antitumorală a calophionei A va fi investigată în continuare (Ganapaty S, Srilakshimi GVK, Pannakal ST et al. Cytotoxic benzyl and coumestan derivates from *Tephrosia calophylla*. *Phytochemistry* 2009 ; 70 (1) : 95-99).

Anca Miron

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

FARMACIE **ARTICOLE ORIGINALE**

BENZIMIDAZO-PIRIMIDINO-IMIDAZO-TIADIAZINE FARMACOLOGIC ACTIVE

Georgeta Rusu, Lenuţa Profire, Gh. Dănilă
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Farmacie
Disciplina de Chimie Farmaceutică

BENZIMIDAZO-PYRIMIDINO-IMIDAZO-THIADIAZINES PHARMACOLOGICA-LLY ACTIVE (Abstract) : The compounds with thiadiazine structure have numerous biological properties. They are known for antimycotic, antimicrobial, antiviral, vasodilatatory, antiarytmic, bronhodilatatory and antiagregant actions. **Material and method**: In order to study the influence of the different substituents on pharmacological properties of the thiadiazine compounds new benzimidazo-pyrimidino-imidazo-thiadiazine derivatives with potential biological actions have been synthesized. **Results**: The optimal conditions of reaction have been established and the chemical structure of the synthesized compounds has been confirmed by elemental analysis and IR spectroscopy. **Conclusions**: The calculated formula according to the elemental analysis results and the spectral characteristics are in good agreement with the expected structures proposed. **Key words**: THIADIAZINES, 1,3-DIMETHYL-XANTHINE, BENZIMIDAZOLE

În literatura de specialitate sunt prezentate numeroase cercetări ce atestă variate însuşiri biologice ale tiadiazinelor divers substituite. Exemplificăm prin: acţiunea antimicotică (produsele farmaceutice: Sulbentine, Fungiplex, Refungine) (1,2), antimicrobiană (3,4), antiparazitară (efecte favorabile pe protozoare - specii de *Leishmania*, de *Trichomonas vaginalis*, de *Trypanosoma cruzi*) (5,6,7,8), acţiune antivirală (9, 10). Unii derivaţi posedă însuşire relaxant - musculară (11).

De remarcat, de asemenea, interesantele proprietăţi vasodilatatoare (12), antiaritmice (13), bronhodilatatoare (14) ca şi cele antiagregant-plachetare (15) ale unor tiadiazine (în multe cazuri implicate în sisteme policiclice).

Pornind de la aceste constatări care reflectă o gamă foarte variată de proprietăţi biologice, am considerat oportune cercetările noastre având ca subiect heterociclul tiadiazinic substituit pentru a evidenţia potenţialul farmacologic şi influenţa diverşilor substituenţi asupra acţiunii.

Arhitectura moleculară a compuşilor sintetizaţi evidenţiază componente, care ele însele, reprezintă molecule cu interesante proprietăţi farmacologice (benzimidazol; 1,3-dimetil-xantina). Parte din ele au făcut obiectul a numeroase cercetări anterioare ale colectivului nostru (16,17,18,19,20,21, 22,23).

MATERIAL ŞI METODĂ

Compuşii au fost sintetizaţi utilizând schema de reacţii prezentată în figura 1.

8-bromo-1,3-dimetil-xantina (2) (8-bromo-teofilina). Într-un balon de 1 L se aduc 75 g (0,378 mol) teofilină peste care se adaugă 425 mL acid acetic glacial. Amestecul de reacţie se fierbe, la reflux, până când întreaga cantitate de teofilină intră în soluţie. Soluţiei limpezi, fierbinţi i se adaugă 100 g (0,625 mol) brom din pâlnia de separare. Rezultă o masă compactă roşie-brună. Se transvazează într-un pahar Berzelius şi conţinutul se spală, repetat, cu multă apă. Pentru îndepărtarea completă a bromului, se transvazează într-o capsulă de porţelan şi se încălzeşte pe baia de apă până când supernatantul este incolor. Se filtrează la vid. Se usucă la temperatura camerei. Randament = 98 g (100%), p.t. 302-304°C.

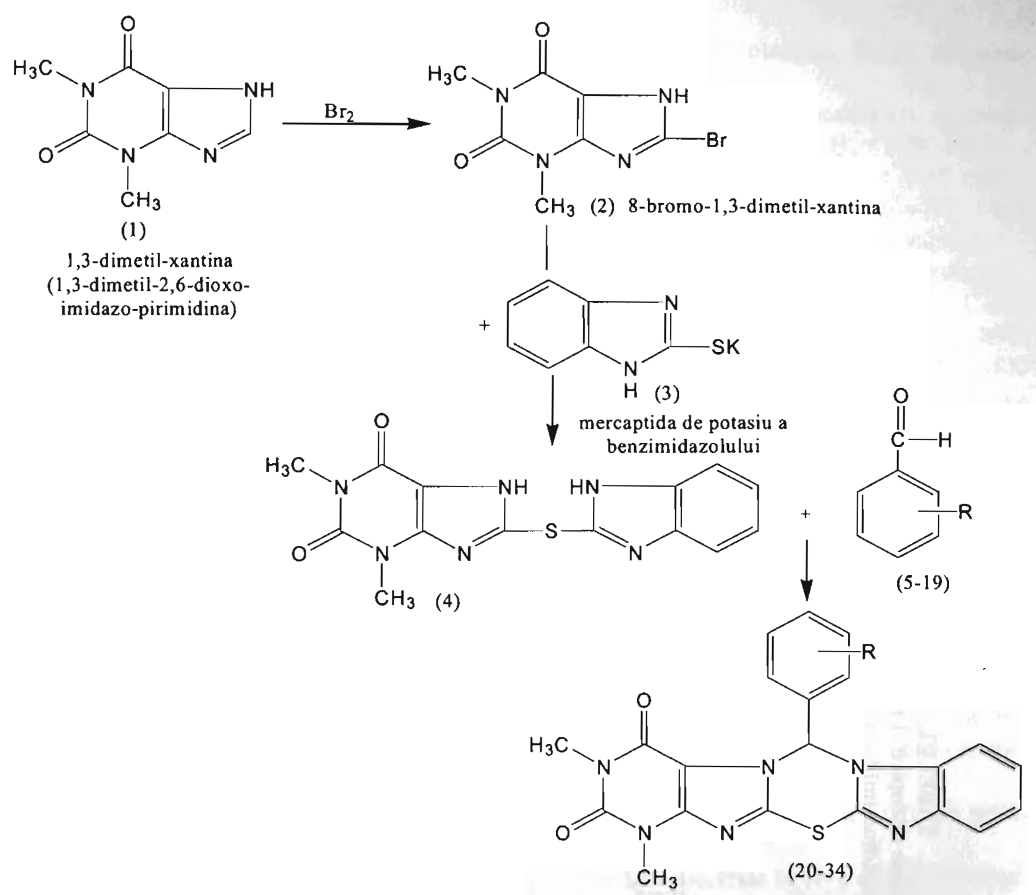
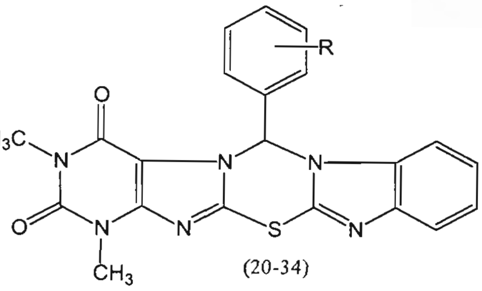

H$_3$C
O
N
NH
CH$_3$
(1)
1,3-dimetil-xantina
(1,3-dimetil-2,6-dioxo-imidazo-pirimidina)
Br$_2$
Br
(2) 8-bromo-1,3-dimetil-xantina
+
SK
H (3)
mercaptida de potasiu a benzimidazolului
HN
S
(4)
C—H
R
(5-19)
(20-34)

Fig. 1. Schema de reacţii pentru sinteza unor noi benzimidazo-pirimidino-imidazo-tiadiazine

1,3-dimetil-xantin-il-8-mercapto-benzimidazol (4). 51,8 g (0,2 mol) 8-bromo-1,3-dimetilxantină se dizolvă în 700 mL dimetilformamidă (DMF), la fierbere. Separat 37,6 g (0,2 mol) mercaptida de potasiu a benzimidazolului se dizolvă în 350 mL DMF, la cald. Se unesc cele două soluţii şi amestecul obţinut se fierbe la reflux timp de 4 ore. Separă imediat bromura de potasiu, insolubilă in DMF. Se filtrează pentru îndepărtarea bromurii de potasiu. Din filtratul rezultat se îndepartează solventul. Se reia cu 500 mL apă rece. Se agită. Separă un precipitat galben. Se filtrează la vid. Se usucă la temperatura camerei. Randament = 27 g (41,12%), p.t. 248-250°C (alcool 50% v/v). Pulbere galbenă, microcristalină, greu solubilă în apă rece, solubilă în propilenglicol, acetonă, DMF, dimetilsulfoxid (DMSO), parţial solubilă, la cald, în alcool 96% (v/v).

TABELUL I
Formulele de structură, punctele de topire şi rezultatele analizelor elementale ale benzimidazo-pirimidino-imidazo-tiadiazinelor sintetizate



(20-34)

Nr. compus	R	Formula moleculară	Mr	Punct de topire °C	Randament (%)	Analiza elementală					
						C%		H%		N%	
						calculat	găsit	calculat	găsit	calculat	găsit
20	H	$C_{21}H_{16}N_6O_2S$	416,41	261	65	60,57	60,72	3,87	3,69	20,18	20,25
21	OCH_3 (2)	$C_{22}H_{18}N_6O_3S$	446,485	249-251	63	59,18	59,03	4,06	4,11	18,82	18,78
22	OCH_3 (3)	$C_{22}H_{18}N_6O_3S$	446,485	265 (desc.)	66	59,18	59,29	4,06	4,16	18,82	18,96
23	OCH_3 (4)	$C_{22}H_{18}N_6O_3S$	446,485	310-313	60,6	59,18	59,27	4,06	3,98	18,82	18,69
24	OCH_3 (2,4)	$C_{23}H_{20}N_6O_4S$	476,511	226-228	60	57,97	57,75	4,23	4,12	17,64	17,75
25	NO_2 (2)	$C_{21}H_{15}N_7O_4S$	461,457	301-303	95,7	54,66	54,48	3,28	3,17	21,25	21,37
26	NO_2 (4)	$C_{21}H_{15}N_7O_4S$	461,457	325 (desc.)	97,8	54,66	54,51	3,28	3,35	21,25	21,39
27	Cl (2)	$C_{21}H_{15}ClN_6O_2S$	450,905	261-263	73,3	55,94	56,02	3,35	3,42	18,64	18,81
28	Cl (4)	$C_{21}H_{15}ClN_6O_2S$	450,905	291-301 (desc.)	74,5	55,94	55,81	3,35	3,28	18,64	18,78
29	Cl (2,4)	$C_{21}H_{14}Cl_2N_6O_2S$	485,350	247-249	79,2	51,97	52,07	2,90	2,99	17,32	17,43
30	HO (2)	$C_{21}H_{16}N_6O_3S$	432,41	233-235 (desc.)	91,2	58,33	58,25	3,73	3,87	19,44	19,61
31	HO (3)	$C_{21}H_{16}N_6O_3S$	432,41	220-222 (desc.)	81	58,33	58,44	3,73	3,90	19,44	19,58
32	HO (3,4)	$C_{21}H_{16}N_6O_4S$	448,456	245-247	85,3	56,24	56,38	3,60	3,71	18,74	18,92
33	$N(CH_3)_2$ (4)	$C_{23}H_{21}N_7O_2S$	459,48	225 (desc.)	91,5	60,12	60,21	4,61	4,72	21,34	21,47
34	$NHCOCH_3$ (4)	$C_{23}H_{19}N_7O_3S$	473,46	271-273 (desc.)	93,5	58,35	58,49	4,05	4,15	20,71	20,85

Benzimidazo-[2´,3´-b]-pirimidino-imidazo-[7",8"-e]-4H-(4-metoxi-fenil)-1,3,5-tiadiazina (23). 3,28 g (0,01 mol) 1,3-dimetil-xantin-8-il-mercapto-benzimidazol (4) se dizolvă în 320 mL alcool etilic 96% (v/v) la cald. Se adaugă 1,36 g (0,01 mol) aldehidă p-metoxi-benzoică. Amestecul de reacţie se fierbe la reflux, pe baie de apă, timp de 4,5 ore. Se filtrează fierbinte. Se îndepărtează solventul. Rezultă un precipitat alb cu tentă gălbuie. Se filtrează la vid. Se spală pe filtru cu eter etilic pentru îndepărtarea aldehidei, eventual nereacţionate. Se usucă la temperatura camerei. Randament = 2,7 g (60,6%). Pulbere microcristalină, greu solubilă în apă rece, acetonă, cloroform, insolubilă în eter etilic, solubilă la cald în alcool, apă, solubilă în DMF şi DMSO.

Condensarea 1,3-dimetil-xantin-8-il-mercaptobenzimidazolului cu diverse alte aldehide aromatice s-a realizat în condiţii similare.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Compuşii finali obţinuti sunt solizi, microcristalini, coloraţi de la alb-gălbui, slab-galben la galben-intens. În tabelul I sunt prezentate formulele de structură, temperaturile de topire şi rezultatele analizelor elementale ale benzimidazo-pirimidino-imidazo-tiadiazinelor sintetizate.

Structura dedusă prin sinteză, a fost confirmată prin analiză spectrală în IR. Spectrogramele înregistrate evidenţiază benzi de absorbţie în IR, caracteristice componentelor structurale, cu unele modificări de poziţie (uşoare deplasări), formă şi intensitate.

Exemplificam prin parametri spectrali ai compusului **23**: $>N\text{-}CH_3$: 2790 cm^{-1}; $-CH_3$: 1010 cm^{-1}; $>C=C<_{N<}$: 1695 cm^{-1}; $>C=C<_{CO-}$: 1615 cm^{-1}; $>C=N$: 1495 cm^{-1}; -NH-: 3425 (vibraţie de valenţă); -NH-: 1195 cm^{-1} (vibraţie de deformaţie); C-C (nucleu aromatic): 1465 cm^{-1}; -C-N: 1060 cm^{-1}; -C-S: 745 cm^{-1}; OCH_3: 1005 cm^{-1}; C-N-C: 1125 cm^{-1}; O=C-N-R: 3400 cm^{-1} (vibraţie asimetrică); O=C (nucleu pirimidinic): 1635 cm^{-1}; nucleu imidazolic: 760-800 cm^{-1}; 1,3-dimetilxantina: 1695 cm^{-1}, 1430-1470 cm^{-1}, 1660 cm^{-1}.

CONCLUZII

Au fost obtinuţi 15 compuşi din seria benzimidazo-pirimidino-imidazo-tiadiazinelor, ceea ce a implicat sinteza prealabilă a doi intermediari.

S-au stabilit condiţiile exacte, în vederea realizării lor cu randamente cât mai bune şi puritate avansată.

Compuşii au fost caracterizaţi din punct de vedere fizico-chimic.

Analiza spectrala în IR a confirmat structura compuşilor sintetizaţi.

Investigaţiile preliminare, de ordin biologic, au evidenţiat faptul că derivaţii sintetizaţi, la administrare i.v., în doze de 2-8 mg/kg, la câine, produc scăderea valorilor tensiunii arteriale. Se presupune că efectul se exercită prin mecanism nemediat de către receptorii vegetativi.

BIBLIOGRAFIE

1. *** *The Merck Index*. XIIIth ed. Whitehouse Station NJ: Merck and Co Inc., 2001.
2. Rodriguez - Fernandes E, Manzano JL, Benito JJ, Hermosa R, Monte E, Criado JJ. Thiourea, triazole and thiadiazine compounds and their metal complexes as antifungal agents. *J Inorg Biochem* 2005; 59 (8): 1558-1572.
3. Katiyar D, Tiwari VK, Tripathi RP et al. Synthesis and antimycobacterial activity of 3,5-disubstituted thiadiazine thiones. *Bioorg Med Chem* 2003; 11: 4369-4375.

4. Habib NS, Soliman R, As-four FA., El-Tailbi M. Synthesis and antimicrobial testing of 4H-1,2,4-triazole,1,2,4-triazolo[3,4-b]-[1,3,4]-thiadiazole and 1,2,4-triazolo [3,4-b][1,3,4]-thiadiazine derivatives of 1H-benzimidazole. *Pharmazie* 1997 ; 52 (11) : 844-847.
5. Fidalgo LM, Alvarez AM, Geigel L, Perez R, Suarez Rodriguez H. Effect of thiadiazine derivatives on intraceluular Amastigotes of Leishmania amazonensis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* Rio de Janeiro 2004 ; 99 (3) : 329-330.
6. Ochoa C, Perez E, Perez R et al. Synthesis and antiprotozoas properties of new 3,5-disubstituted-tetrahidro-2H-1,3,5-thiadiazine-2-tione derivatives. *Drug Research* 1999 ; 49 : 764-769.
7. Muelos S, Di Maio R, Cerecetta H, et al. New thiadiazine derivatives with activity against *Trypanosoma cruzi* amastigotes. *Folia parazitologica* 2001 ; 48 : 105-108.
8. Atienzo J, Martinez Diez RA, Gomez Barrio A et al. Activity assays of thiadiazine derivatives on *Trichomonas vaginalis* and amastigote forms of *Trypanosoma cruzi*. *Chemotherapy* 1992 ; 38 (6) : 441-446.
9. Martinez A, Esteban AJ, Herrero A et al. Imidazothiadiazine dioxides : synthesis and antiviral activity. *Bioorg Med Chem* 1999 ; 7 (8) : 1617-1623.
10. Martinez A, Gil C, Castro A et al. Benzothiadiazine dioxide human cytomegalovirus inhibitors : synthesis and antiviral evaluation of main heterocycle modified derivatives. *Antivir Chem Chemother* 2003 ; 14 (2) : 104-114.
11. Castro A, Martinez A, Cardelus I, Lienas J. Dioxides of bicyclic thiadiazines : a new family of smooth muscle relaxants. *Bioorg Med Chem* 1995 ; 3 (2) : 179-185.
12. Ohsaki T, Kuriki T, Ueda T, Sakakibara J, Asano M. Synthesis of imidazo [4,5-c][1,2,6]-thiadiazine-2-oxides from hydrolites of xanthines and determination of their vasodilating activity. *Chem Pharm Bull* 1988 ; 36 (3) : 877-892.
13. Himmel HM, Wettwer E, Lues I, Beier N, Jonas R, Raveus U. Three thiadiazinone derivatives, EMD 60417, EMD 66430, EMD 66398, with class III antiarrhythmic activity but different electrophysiologic profiles. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001 ; 38 (3) : 438-439.
14. Campillo N, Garcie C, Goya P, Alkorto I, Aez JA. Novel bronchodilatators : synthesis, transamination reactions and pharmacology of a series of pyrazino[2,3-c][1,2,6]-thiadiazine -2,2-dioxides. *J Med Chem* 2000 ; 43 (22) : 4219-4227.
15. Campillo N, Garcia C, Goya P, Paez JA., Carrasco E, Grau M. Novel aryl-pyrazino [2,3-c][1,2,6]-thiadiazine-2,2-dioxides as inhibitors of platelet agregation. *J Med Chem* 1999 ; 42 : 3279-3288.
16. Dănilă Gh, Rusu G, Alexandrescu G, Profire L. Cercetări în seria metil-xantinelor. Sinteza şi caracterizarea fizico-chimică a unor 7-R-1,3-dimetil-xantine. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iaşi* 2003 ; 107 (2) : 439-443.
17. Dănilă Gh, Rusu G. Derivaţi hidrosolubili ai teofilinei şi procedeu de preparare. *Brevet nr. 106136 CI*, 1998.
18. Dănilă Gh, Rusu G. Derivat benzimidazolic al 1,3-dimetil-xantinei şi procedeu de preparare. *Brevet nr. 104611*, 1994.
19. Profire L, Dănilă Gh, Tuchiluş C, Poiata A, Rusu G. Sinteza şi activitatea antimicrobiană a unor noi benzimidazol-dimetil-xantine. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iaşi* 2003 ; 107 (2) : 233-238.
20. Profire L, Dănilă Gh, Nechifor M. Cercetări privind proprietăţile cardiovasculare ale unor derivaţi metilxantinici. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iaşi* 2003 ; 107 (4) : 872-876.
21. Dănilă Gh, Ungureanu M, Pavelescu M, Rusu G, Sandu I. Cercetări privind sinteza şi proprietătile antiinflamatoare ale unor derivaţi ai acidului 7-teofilinil-acetic. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iaşi* 1990 ; 94 (3-4) : 581-586.
22. Dănilă Gh, Profire L, Costuleanu M. Cercetări privind acţiunea bronhodilatatoare a unor noi compuşi xantinici. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iaşi* 2000 ; 104 (4) : 131-136.
23. Rusu G, Dănilă Gh, Nechifor M. Derivaţi ai benzimidazolului cu acţiune antihipertensivă şi antiagregant plachetară. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iaşi* 1993 ; 97 (2) : 269-272.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

O EVALUARE ASUPRA METODELOR DE APRECIERE A HEMOCOMPATIBILITĂŢII NANOPARTICULELOR MAGNETICE

Al.D. Ciochină[1], O. Bredeţean[2], Daniela-Cristina Dimitriu[3], Gheorghe Iacob[4]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Bioinginerie Medicală
1. Disciplina de Fiziologie normală şi patologică
2. Disciplina de Biocompatibilitate şi Testare Farmacologică
4. Disciplina de Electrotehnică
Facultatea de Medicină
3. Disciplina de Biochimie

CONSIDERATIONS ON *IN VITRO* AND *IN VIVO* MAGNETIC NANOPARTICLES HEMOCOMPATIBILITY TESTING (Abstract) : The aim of this paper is to summarize few aspects and underline some difficulties that hemocompatibility testing come up. The purpose of hemocompatibility testing is to look for possible undesirable changes in the blood caused directly by a medical device, by chemicals leaching from a device or biomaterials. Undesirable effects of device materials on the blood may include alterations in coagulation parameters, thrombus formation, hemolysis, and immunological changes. For each different event the literature is rich in showing tests, not different in principle, but in testing conditions. ISO 10993-4 describes hemocompatibility tests in five different categories (thrombosis, coagulation, platelets, hematology, and immunology). Here we put together the tests that ISO 10993 and/or American Society for Testing and Materials (ASTM) suggest to evaluate hemocompatibility and we emphases on their utility for magnetic nanoparticules testing. The individual tests are not discussed in detail ; they may be performed either in vivo or, preferably, in vitro. For each test we made few considerations with criticism. There is still some uncertainty with respect to what is actually required by the regulatory authorities for the hemocompatibility test, and there is still no harmony between ASTM and ISO 10993 regulations regarding some aspects to be standardised. **Key words** : HEMOCOMPATIBILITY, MAGNETIC NANOPARTICLES, COAGULATION PARAMETERS, THROMBUS FORMATION, HEMOLYSIS, COMMPLEMENT ACTIVATION

După ce în 1960, Freedman et al. (1) au propus transportul particulelor fine de fier prin sistemul vascular, în vederea concentrării în anumite zone din organism (cu ajutorul câmpului magnetic extern), utilizarea nanoparticulelor magnetice în biologie şi medicină a devenit un domeniu prioritar de cercetare (2,3,4,5,6,7). În acest context testarea biocompatibilităţii şi mai ales a hemocompatibilităţii, cu stabilirea unor standarde general valabile, rămâne încă un deziderat.

În ultimii ani au fost publicate numeroase articole de sinteză ce evaluează stadiul cunoştinţelor actuale privind interacţiunea dintre nanoparticulele biocompatibile şi structurile biologice (7,8,9,10,11, 12,13).

Într-o definiţie generală formulată de Rodgers, hemocompatibilitatea se referă la ansamblul proprietăţilor ce permit oricăror dispozitive şi instrumente medicale menţinerea contactului cu sângele, fără a determina reacţii adverse şi fără a interacţiona cu acesta, mai exact, absenţa oricăror fenomene de trombogenitate, a oricărei forme de hemoliză şi de activare a sistemului complement (14).

Pe parcursul ultimelor decenii au fost descrise mai multe metode de evaluare a hemocompatibilităţii biomaterialelor, începând cu cele a căror validitate este mai mult generală, până la cele care se referă la aplicaţii foarte specifice (15,16,17).

Recent, Ratner et al. (17) au remarcat că termenii de *hemocompatibilitate* şi de *material hemocompatibil* nu au fost definiţi cu acurateţe de către cercetătorii din domeniul biomaterialelor, în ciuda faptului că studiului intensinv al domeniului i-au fost dedicaţi mai mult de 50 de ani. Nu există încă un consens referitor la biomaterialele compatibile cu sângele, mai mult decât atât, nu există metode simple şi standardizate pentru evaluarea hemocompatibilităţii.

Dată fiind complexitatea interacţiunii dintre sânge şi diferitele biomateriale utilizate în medicină şi biologie, este deosebit de importantă înţelegerea parametrilor ce trebuie evaluaţi: hemoliza, activarea coagulării, adeziunea celulelor sanguine, activarea şi agregarea plachetară, activarea complementului, prezenţa/absenţa efectelor nocive asupra leucocitelor şi proteinelor circulante. De asemenea, trebuiesc bine definite condiţiile în care sunt evaluaţi aceşti parametri pentru a putea defini biomaterialul ca fiind hemocompatibil.

Standardele pentru utilizarea/aplicarea testelor de evaluare a hemocompatibilităţii materialelor şi dispozitivelor medicale sunt oferite de Societatea Americană pentru Testare şi Materiale (American Society for Testing and Materials - ASTM) şi de standardele ISO ((18,19).

Standardizarea ASTM include un set de principii pentru materialele, instrumentele şi dispozitivele ce intră în contact cu sângele: în ASTM F78-98, hemoliza, tromboza şi activarea complementului sunt parametrii principali, iar în ASTMF756-94 şi ASTM F1841-97 sunt descrise metode pentru evaluarea hemolizei şi a efectelor hemolitice (19). Deşi în aceste standarde principiile de caracterizare a hemocompatibilităţii se referă la dispozitive şi instrumentar medical, tehnicile şi metodele de investigare ar putea fi folosite, cu minime modificări, în testarea hemocompatibilităţii *nanoparticulelor magnetice*.

HEMOCOMPATIBILITATEA NANOPARTICULELOR

Langer şi Peppas au investigat pentru prima dată sistemele de eliberare controlată a medicamentelor, punând accent pe faptul că transportorii polimerici ar trebui consideraţi ca biomateriale (20). În aceeaşi perioadă, Marty, Oppenheim şi Speiser au sugerat utilizarea transportorilor de dimensiuni nanometrice atât pentru o mai mare eficacitate terapeutică cât şi pentru diminuarea efectelor secundare nedorite, relativ frecvente la utilizarea medicamentelor foarte active (21).

Este unanim acceptat faptul că nanoparticulele şi nanostructurile au o serie de proprietăţi specifice, ceea ce necesită modificarea tehnicilor de caracterizare standard pentru hemocompatibilitate. Astfel:

- Nanoparticulele au un raport suprafaţă/volum mai mare şi mai mulţi atomi la suprafaţă;
- Adsorbţia proteinelor şi alte interacţiuni guvernate de evenimente moleculare sunt diferite la scală nanometrică, influenţând răspunsul în ceea ce priveşte atât coagularea, cât şi activarea celulară şi a complementului.

Deşi nu este o tendinţă sistematică, studiile în care hemocompatibilitatea nanoparticulelor a fost mai mult sau mai puţin evaluată, au crescut semnificativ în ultimii ani. Recent, Michanetzis G, Missirlis YF şi Antimisiaris SG (15), au publicat o amplă analiză bazată pe o vastă bibliografie, subliniind faptul că în majoritatea cazurilor citocompatibilitatea/citotoxicitatea şi testarea *in vivo* sunt cele mai folosite tehnici de evaluare a biocompatibilităţii; diferitele tipuri de culturi celulare sunt selectate în funcţie de caracteristicile viitoarei aplicări terapeutice (calea de administrare, biodisponibilitatea agentului terapeutic, dozarea acestuia etc.). Autorii subliniază că testele folosite pentru studiul hemocompatibilităţii sunt în cele mai multe cazuri limitate la evaluarea hemolizei, alţi parametri (de exemplu adezivitatea celulelor sangvine, activarea şi agregarea plachetară, activarea sistemului de coagulare şi/sau activarea complementului) fiind evaluaţi doar ocazional.

HEMOCOMPATIBILITATEA NANOPARTICULELOR MAGNETICE

Nanoparticulele din materiale fero- sau ferimagnetice, intră, de regulă, în alcătuirea fluidelor magnetice, realizând un sistem coloidal stabil, care se comportă în câmp magnetostatic ca un lichid newtonian omogen (22,23). În mediu lichid, nanoparticulele au un comportament superparamagnetic (nu prezintă remanenţă), posedă o bună capacitate de legare a substanţelor biologic active şi o relativă stabilitate *in vivo* (24,25).

În ultimii ani sau acumulat numeroase date atât experimentale, cât şi studii clinice, privind aplicaţiile biomedicale ale ferofluidelor magnetice: separarea şi identificarea celulelor (24,26,27,28), eliberarea controlată a medicamentelor (29,30,31,32), imagistica de rezonanţă magnetică nucleară-IRM (2,33,34), hipertermia indusă local (35,36), terapia locoregională antitumorală (37,38,39).

Şi în cazul nanoparticulelor magnetice evaluarea hemocompatibilităţii este limitată, în majoritatea situaţiilor, la evaluarea hemolizei, de aceea considerăm utilă, în cele ce urmează, o trecere în revistă a tehnicilor mai accesibile, şi a căror utilizare sistematică se impune a fi reglementată prin protocoale şi standarde.

1. Hemoliza

Hemoliza poate fi uşor evaluată (15) printr-o tehnică simplă: după incubarea în condiţii statice şi pe o perioadă determinată a unui eşantion de sânge integral sau de hematii, se efectuează centrifugarea eşantionului şi se determină indexul hemolizei după formula: $HML\% = 100 \times (OD_{eşantion} - OD_{NegCon})/(OD_{PozCon} - OD_{NegCon})$, unde controlul pozitiv (PozCon) este valoarea obţinută după incubarea apă distilată/sânge, iar controlul negativ (NegCon) este valoarea obţinută după incubarea soluţiei saline/sânge.

Trebuie menţionat că studiile existente în literatură au abordări diferite (4,5,6,11, 28,32,41,42): începând cu lungimea de undă la care se măsoară cantitatea de hemoglobină eliberată (în general la 540 nm, dar şi la 399-413 nm), precum şi cu privire la raportul de volum sau de greutate între proba de sânge şi nanoparticulele magnetice (NPM), timpul de incubare etc.

Standardizarea tehnicii de evaluare a hemolizei ar trebui să includă folosirea de suprafeţe echivalente de testare, a unui timp standard de contact (incubare) cu sângele şi măsurarea la o lungima de undă specifică (fixă). S-ar impune şi găsirea unor metode comune (standard) de preparare a eşantioanelor care sunt evalueate (soluţii de nanoparticule, sânge), cât şi a eşantioanelor de control pozitive şi negative.

In plus, în cazul NPM care nu precipită în timpul centrifugării probelor de sânge sau a hematiilor, în funcţie de concentraţia de NPM folosită pentru fiecare test, o absorbţie fals pozitivă poate fi posibilă datorită turbidităţii de fundal a NPM; de aceea, ar putea fi nevoie ca eşantionul de control negativ cu NPM (care se cunosc a fi nonhemolitice) să aibă aceeaşi concentraţie.

2. Coagularea plasmei

Evaluarea activării sistemului de coagulare poate fi efectuată prin câteva tehnici cronometrice, care evaluează interacţiunea dintre sânge şi NPM asupra duratei coagulării: timpul trombinic (TT), timpul de prototrombină (PT), timpul tromboplastinei parţial (ne)activate (APTT); determinarea fibrogenului şi a produşilor de degradare a fibrinei, cât şi determinarea masei cheagului format după interacţiunea dintre sânge (cu sau fără anticoagulant) şi NPM.

Nu în ultimul rând, tromboelastografia este o metodă utilă pentru evaluarea hemocompatibilităţii. Curbele rezultate din tromboelastografie pot să furnizeze informaţii despre diverşi parametri cum ar fi: activarea şi agregarea trombocitelor, formarea şi retracţia cheaguluii. Cu toate acestea, rămâne o abordare holistică, ce nu poate furniza informaţii detaliate asupra interacţiunii dintre sânge şi NPM.

De remarcat din nou, rolul important pe care îl au condiţiile experimentale în determinarea rezultatelor: evaluarea în condiţii statice sau dinamice (flux), diverşi anticoagulanţi, timpi de contact diferiţi etc., sunt tot atâtea cauze ce pot influenţa rezultatele.

3. Morfologia, adezivitatea, activarea şi agregarea trombocitelor

Morfologia celulelor sanguine, adezivitatea şi agregarea la surpafaţa NPM se pot studia prin microscopie electronică, combinată cu marcarea fluorescentă a celulelor sanguine, activate sau inctivate (21,22).

Activarea celulelelor saguine (în special a trombocitelor) poate fi studiată şi cu ajutorul tehnicilor de microscopie mai sus menţionate după marcarea specifică (CD41, CD62-p, complexe exprimate în cazul activării).

Integritatea funcţională a trombocitelor (abilitatea acestora de a se agrega) este un parametru important ce trebuie testat în cazul NPM ce vehiculează medicamente în sistemul circulator. Acest parametru este, în mod normal, testat prin măsurarea fotometrică a răspunsului plasmei bogate în trombocite în prezenţa concentraţiilor standard de activatori ai trombocitelor (ADP, colagen, adrenalină etc.) şi înregistrarea acestui răspuns, prin folosirea unui agregometru care înregistrează intesitatea luminoasă din eşantion, intensitate ce creşte pe măsură ce trombocitele se adună.

Folosind metoda ELISA, activarea celulelelor saguine poate fi de asemenea evaluată, prin măsurarea eliberării proteinelor specifice (de exemplu, în cazul trombocitelor beta-tromboglobulin - βTG, factorul 4 plachetar - PF4).

4. Activarea complementului

Activarea complementului este un alt paramentru imporant pentru evaluarea hemocompatibilităţii, deoarece forma, compoziţia chimică a NPM, precum şi produşii de degradare fie ai NPM, fie ai medicamentului cu care acestea sunt complexate, pot activa în grade diferite sistemul complement (6,8,15,35,44,46).

În general, activarea complementului este evaluată folosind tehnici ELISA pentru a determina fracţiunile complementului (iC3b, Bb, TCC, C3a, C5a etc.), care rezultă din interacţiunea NPM cu sângele. Trebuie măsuraţi cel puţin 2 factori ai complementului (după standardele ISO 10993-4, C3a şi SC5b-9).

Evaluarea activării complementului se face la un interval de 15 minute de la expunerea probei, deoarece acesta este intervalul în care producţia de elemente ale sistemului complement ajunge la maxim.

Alte metode *in vitro* pentru evaluarea activării complementului sunt măsurarea CH_{50} (doza de complement care lizează 50% din celulele roşii aflate în suspensie) şi a altor componente ale sistemului complement folosind tehnici de imunoelectroforeză.

Atunci când medicamentul asociat cu NPN sau produşii de degradare ai NPM induc o activare suplimentară a complementului, intervalul de evaluare ar trebui reconsiderat, sau ar trebui evaluat pentru un timp diferit de contact.

5. Evaluarea *in vivo* a hemocompatibilităţii nanoparticulelor magnetice

Câteva aspecte sunt importante pentru selecţia testelor ce evaluează hemocompatibilitatea instrumentarului medical şi/sau biomaterialelor, inclusiv NPN. Testarea *in vivo* pe animale poate fi convenabilă, dar diferenţele dintre reactivitatea sangvină a diferitelor specii comparativ cu cea a sângelui uman trebuie avute în vedere, aceste diferenţe putând limita predictibilitatea în clinica umană, a oricărui test utilizat. Parametrii şi reactivitatea sangvină umană sunt foarte asemănători cu a primatelor non umane, dar reglementările Comunităţii Europene interzic utilizarea acestora din urmă pentru testarea biocompatibilităţii (inclusiv a hemocompatibilităţii), instrumentarului medical şi a biomaterialelor.

O altă problemă importantă legată de testarea hemocompatibilităţii biomaterialelor pe animale constă în lipsa de materiale adecvate pentru testare, de exemplu anticorpii corespunzători necesari investigaţiilor imunologice.

Utilizarea sângelui uman pentru evaluarea hemocompatibilităţii presupune testarea *in vitro* ceea ce necesită în mod obişnuit utilizarea anticoaagulantelor care nu sunt prezente în mod obişnuit alături de instrumentarul medical sau biomateriale în situaţii clinice, cu excepţia perioadei iniţiale de "implantare".

Deşi diferenţele dintre specii pot complica evaluarea hemocompatibilităţii, utilizarea pe termen scurt sau lung a animalelor pentru testare, este considerată utilă în special pentru studiul trombozei şi a interacţiunii cu ţesuturile.

Evaluarea *in vivo* a interacţiunii dintre sânge şi NPM poate fi considerat pasul final înainte de testarea clinică.

Pentru testarea biohemocompatibilităţii sunt utilizate mai multe specii animale, acestea fiind alese în funcţie de tipul de test sau de procedura chirurgicală (26,32,33,36,38, 39). Problemele de bioetică trebuie identificate şi respectate. Studiile histopatologice complexe sunt cele care aduc informaţii utile asupra toxicităţii, biodisponibilităţii şi eficienţei terapeutice sau diagnostice.

Şi studiile *in vivo* sunt foarte eterogene din punct de vedere al tehnicilor, metodelor şi condiţiilor experimentale (32,33,34,37, 38,39,43,45,46,47,48). În acelaşi timp, normele ISO 10993 recomandă, pentru aprecierea hemocompatibilităţii, numai un singur test, şi anume "trombogenitatea la câine".

CONCLUZII

Nanoparticulele magnetice şi-au găsit în ultimele decenii importante aplicaţii în medicină. Studii publicate recent, evocă printre avantajele utilizării NPM în administrarea controlată a medicamentelor, reducerea substanţială a toxicităţii, administrarea uşoară şi nu în ultimul rând o bună biocompatibilitate. În legătură directă cu aceasta, *hemocompatibilitatea,* este abordată încă diferit şi neunitar, lipsa unei sistematizări, pe bază de standarde şi protocoale de evaluare, făcându-se resimţită cu acuitate.

BIBLIOGRAFIE

1. Freeman MV, Arrott A, Watson JHL. Magnetism in Medecine. *J Appl Phys* 1960; 31: S404-405.
2. Gleich B, Weizeneker J. Tomografic imaging using the nonlinear response of magnetic particles. *Nature* 2005; 435: 1214-1217.
3. Muro S, Gajewski C, Koval M, Muzykantov R. ICAM-1 recicling in endothelial cells: a novel pathway

for sustained intracellular delivery and prolonged effects of drugs. *Blood* 2005 ; 105 (2) : 650-658.

4. Sayed ZM, Telang SD, Ramchand CN. Application of magnetic techniques in the field of drug discovery and biomedecine. *Biomagn Res Technol* 2003 ; 1 : 2.
5. Pankhust QA, Connolly J, Jones SK, Dobson J. Applications of magnetic nanoparticles in biomedecine. *J Phys D : Appl Phys* 2003 ; 36 : R167-R181.
6. Lübbe AS, Alexiou C, Bergemann C. Clinical applications of magnetic drug targeting. *J Surg Res* 2001 ; 95 : 200-206.
7. Yun Y, Huh Y, Choi J et al. Nanoscale size effect of magnetic nanocrystals and their utilization for cancer diagnosis via magnetic resonance imaging. *J Am Chem Soc* 2005 ; 127 : 5732-5733.
8. Chan VSW. Nanomedecine : An unresolved regulatory issue. *Regulatory Toxicol Pharmacol* 2006 ; 46 (3) : 218-224.
9. Davis JM. How to assess the risks of nanotechnology : learning from past experience. *J Nanosci Nanotechnol* 2007 ; 7 (2) : 402-409.
10. Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J. Nanotoxicology : an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 (7) : 218-224.
11. Tsuji JS, Maynard AD, Howard PC et al. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials. Part IV : Risk assessment of nanoparticles. *Toxicol Sci* 2006 ; 42 (1) : 42-50.
12. Oberdörster G, Maynard A, Donaldson K et al. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials : elements of a screening strategy. *Part Fibre Toxicol* 2005 ; 2 (8) : 1743-1778.
13. Morgan K. Development of preliminary framework for informing the risk analysis and management of nanoparticles. *Risk Analysis* 2002 ; 25 (3) : 711-718.
14. Rodgers K. Hemocompatibility. In : Wexler Ph editor. *Encyclopedia of Toxicology.* Elsevier Inc., 2005, 497-498.
15. Michanetsis GP, Missirlis YF, Antimisiaris SG. Haemocompatibility of nanosised drug delivery systems : has it been adequately considered ? *J Biomed Nanotechnol* 2008 ; 4 (3) : 218-233.
16. Missirlis YF. How to deal with the complexity of the blood-polimer interaction. *Clin Materials* 1992 ; 11 : 9-12.
17. Ratner BD, The catastrophe revisited : Blood compatibility in the 21st Century, *Biomaterials*, 2007, 28 : 5144-5147.
18. * * * Annual book of ASTM Standards, 2001, section13, *Medical devices and Services,* West Conshohocken, PA : ASTM : ASTM F78-98 *Standard Practice for Selecting Generic Biological Test Methods for Materials and Devices* ; ASTM F756-93 : *Standard Practice for Assessment of Haemolysis in Continuous Flow Blood Pump.*
19. * * * ISO 10993-4 : 2002, Biological evaluation of medical devices : Part 4 : *Selection of tests for interactions with blood ;* ISO 1135-3 : *Blood Taking Set* ; ISO 3826-4 : *Plastic Collapsible Containers for Human Blood and Blood Components.*
20. Langer RS, Peppas NA, Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems, *Biomaterials*, 1981, 2, 4 : 201-214.
21. Marty JJ, Oppenheim RC, Speiser P, Nanoparticles-new colloidal drug delivery sistems, *Pharm Acta Helvetiae*, 1978, 53 : 17-23.
22. Zahn M, Magnetic fluid and nanoparticle applications to nanotechnology, *J Nanopartic Res,* 2001, 3 : 73-78.
23. Iacob Gh, *Tehnici magnetice de separare. Aplicaţii biomedicale şi în protecţia mediului*, 2005, Ed. Sedcom Libris, Iaşi, 175-181.
24. Iacob Gh, Ciochină Al D, Perspective privind separarea componentelor sângelui şi tratarea tumorilor canceroase prin metode magnetice, *Rev Med Chir,* 1999, 103, 3-4 : 230-235.
25. Bredeţean O, Ciochină Al D, Iacob Gh, Dimitriu Cristina-Daniela, Teleman S, Popa PD, Studiu preclinic asupra unui purtător magnetic tip ferofluid, *Rev Med Chir,* 2002, 106, 4 : 796-800.
26. Bilkenroth U, Taubert H, Riemann D, Rebmann U, Heynermann H, Meye A, Detection and enrichment of disseminated renal carcinoma cells from peripheral blood by immunomagnetic cell separation, *Int J Cancer,* 2001, 92, 4 : 577-582.

27. Koneracka M, Kopcansky P, Timko M, Ramchand CN, de Sequera A, Traven M, Direct binding procedure of proteins and enzymes to fine magnetic particles, *J Mol Catal B-Enzym,* 2002, 689 : 1-6.
28. Rozanova N, Zhang JZ, Metal and magnetic Nanostructures for cancer Detection, Imaging, and Therapy, *J Biomed Nanotechnol,* 2008, 4, 4 : 377-399.
29. Silva AK, Silva EL, Carriço AS, Egito ES, Magnetic carriers : a promising device for targeting drugs into the human body, *Curr Pharm Des,* 2007, 13, 11 : 1179-1185.
30. Voltairas PA, Fotiadis DI, Michalis LK, Hydrodynamics of magnetic drug targeting, *J Biomech,* 2002, 35, 6 : 813-821.
31. Alexiou C, Jurgons R, Seliger C, Iro H, Medical applications of magnetic nanoparticles, *J Nanosci Nanotechnol,* 2006, 6, 9-10 : 2762-2768.
32. Alexiou C, Jurgons R, Seliger C, Brunke O, Iro H, Odenbach S, Delivery of superparamagnetic nanoparticles for local chemotherapy after intraarterial infusion and magnetic drug targeting, *Anticancer Res,* 2007, 27, 4A : 2019-2022.
33. Bhattarai SR, Remant BK, Kim SY, Sharma M, Khil M, Hwang PH, Chung GH, Kim HY, N-hexanoyl chitosan stabilised magnetic nanoparticles : Implication for cellular labeling and magnetic resonance imaging, *J Nanobiotechnol,* 2008, 6 : 1-29.
34. Jordan A, Maier-Hauff K, Magnetic Nanoparticles for Intracranial Thermotherapy, *J Nanosci Nanotechnol,* 2008, 7, 12 : 4604-4606.
35. Li J, Wang B, Liu P, Possibility of active targeting to tumor by local hyperthermia with temperature-sensitive nanoparticles, *Med Hyp,* 2008, 71 : 249-251.
36. Zhang J, Misra RD, Magnetic drug-targeting carrier encapsulated with thermosensitive smart polymer : core-shell nanoparticle carrierand drug release response, *Acta Biomater,* 2007, 336, 2 : 241-247.
37. Pulfer SK, Cicciotto SL, Gallo JM, Distribution of small magnetic particles in brain tumor-bearing rats, *J Neurooncol,* 1999, 41, 2 : 99-105.
38. Li XS, Li WQ, Wang WB, Using targeted magnetic arsenic trioxide nanoparticles for osteosarcoma treatment, *Cancer Biother Radiopharm,* 2007, 22, 6 : 772-778.
39. Kim JH, Kim YS, Park K, Lee S, Nam HY, Min KH, Jo HG, Park JH, Choi K, Jeong SY, Park RW, Kim IS, Kwon IC, Antitumor efficacy of cisplatin-loaded glycol chitosan nanoparticles in tumor-bearing mice, *J Control Release,* 2008, 127, 1 : 41-49.
40. Wiekhorst F, Seliger C, Jurgons R, Steinhoff U, Eberbeck D, Trahms L, Alexiou C, Quantification of magnetic nanoparticles by magnetorelaxometry and comparison to histology after magnetic drug targeting, *J Nanosci Nanotechnol,* 2006, 6, 9-10 : 3222-3225.
41. McCarthy JR, Kelly KA, Sun EY, Weisslender R, Targeted delivery of multifunctional magnetic nanoparticles, *Nanomed,* 2007, 2, 2 : 153-167.
42. Winter PM, Cai K, Caruthers SD, Wickline SA, Lanza GM, Emerging nanomedecine opportunities with perfluorocarbon nanoparticles, *Expert Rev Med Devices,* 2007, 4, 2 : 137-145.
43. Shimizu K, Ito A, Yoshida T, YamadaY, Ueda M, Honda H, Bone tissue engineering with human mesenchymal stem cell sheets constructed using magnetite nanoparticles and magnetic force, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater,* 2007, 82, 2 : 471-480.
44. Takeda S, Terazono B, Mishima F, Nagakami H, Nishijima S, Kaneda Y, Novel drug delivery system by surface modified magnetic nanparticles, *J Nanosci Nanotechnol,* 2006, 6, 9-10 : 3269-3276.
45. Ito A, Hibino E, Kobayashi C, Terasaki H, Kagami H, Ueda M, Kobayashi T, Honda H, Construction and delivery of tissue-engineered human retinal pigment epithelial cel sheets, using magnetite nanoparticles and magnetic force, *Tissue Eng,* 2005, 11, 3-4 : 489-496.
46. Antonelli A, Sfara C, Mosca L, Manuali E, Magnani M, New Biomimetic Constructs for Impruved *in vivo* Circulation of Superparamagnetic Nanoparticles, *J Nanosci Nanotechnol,* 2008, 8, 5 : 2270-2278.
47. Soler MA, Bao SN, Alcantara GB, Tiburcio VH, Paludo GR, Santana JF, Guedes MH, Lima EC, Lacava ZG, Morais PC, Interaction of Erythrocites with Magnetic Nanoparticles, *J Nanosci Nanotechnol,* 2007, 7, 3 : 1069-1071.
48. Moritake S, Taira S, Ichiyanagi Y, Morone N, Song S-Y, Hatanaka T, Yuasa S, Setou M, Functionalized Nano-Magnetic particles for an *In Vivo* Delivery Sistem, *J Nanosci Nanotechnol,* 2007, 7, 3 : 937-944.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

COLLAGEN-HYDROXYAPATITE COMPOSITES WITH APPLICATIONS AS BONE SUBSTITUTES: SYNTHESIS AND CHARACTERISATION

Petruţa Flocea[1], M. Popa[1], Fl. Munteanu[2], Liliana Vereştiuc[2]
Technical University "Gh. Asachi" Iaşi
School of Chemical Engineering and Environmental Protection
1. Department of Chemical Engineering
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medical Bioengineering,
2. Department of Prosthetic Technology and Biotechnology

COLLAGEN-HYDROXYAPATITE COMPOSITES WITH APPLICATIONS AS BONE SUBSTITUTES: SYNTHESIS AND CHARACTERISATION (Abstract): The paper presents synthesis, swelling properties and *in vitro* degradation tests of collagen-hydroxyapatite composites, in the order to obtain new bone substitutes. Also, by using a 3D analysis with finite element the tension distribution at bone - synthesised substitute interface and in bone by comparing to bone substitute was determined. **Materials and method**: Collagen type I from tendon bovine source, provided from Sigma-Aldrich, has been used for materials synthesis. Composite materials have been obtained by hydroxyapatite (HA) precipitation from its precursors (aqueous solutions of $CaCl_2$ and NaH_2PO_4), in the presence of NH_4OH and process finalising at 37°C. Three types of materials have been prepared: 75% collagen - 25% HA(w/w)- Coll75-HA; 50% collagen - 50% HA(w/w)- Coll50-HA; 25% collagen - 75% HA(w/w)- Coll25-HA. Swelling properties of the composite materials were evaluated gravimetrically and in vitro degradation in buffered collagenase was studied. The elasticity modulus was calculated from the dependence force versus material's strain. The 3D analysis with finite element at bone - synthesised substitute interface was performed for a right osteosynthesised fracture from femur. **Results and disscusion**: Materials swelling in simulated body fluids revealed higher equilibrium swelling degree for HA-collagen composites with increased content of collagen. Materials are degraded by collagenase, the degradation rate being strongly dependent by composition; a higher content of collagen makes the composites more sensitive to the specific enzyme. SEM data have shown the forming of hydroxyapatite crystals onto collagen fibers. The mechanical characterisation has shown a limited elasticity at an increased value of the applied force for Coll25-HA. Over these forces the plasticity was observed. By using the 3D analysis with finite element at bone - synthesised substitute interface a higher strength was determined in the bone by comparison to bone substitute. **Conclusions**: The superior elasticity properties of the synthesised collagen-HA by comparison to physiological biomechanical limits indicate a good behaviour as resistance bone substitute with applications in the extensive bones reconstruction (endoprosthesis revision, bone infections etc.). **Key words**: COMPOSITE BIOMATERIALS, COLLAGEN, HYDROXYLAPATITE, BONE SUBSTITUTE

A major problem in reconstructive surgery is repairing of large bone defects. The approaches to these difficulties include the application of autografts or allografts. The autografts materials have some limitations such as reduced donor supply, anatomical and structural problems and elevated levels of resorption during healing. Allografts have the disadvantages of eliciting an immunological response due to genetic differences and the risk of inducing transmissible diseases. Metallic materials, coated or not with bioactive ceramics have been used for load-bearing orthopedic applications, but problems due to metals corrosion, ceramics–metal interface wear, and fibrous tissue formation at the bone - metallic implant interface have been observed (1,2). Therefore, a great attention has been directed towards synthetic or natural-synthetic composites, such as synthetic hydroxyapatite, mixed or not with collagen. Polymeric scaffolds are central component for tissue engineering technology because they direct a variety of cellular processes based on the structural and biochemical properties of the scaffold (3,4,5). The materials used for scaffold fabrication not only determine such physical properties as biocompatibility, biodegradability, and mechanical stability, but also provide the appropriate signals for directing the cellular processes that lead to tissue formation. For this, collagen has become one of the most favored materials for artificial extracellular matrices (ECMs) in tissue engineering applications. Collagen, one of the main classes of structural ECM proteins, consists of three polypeptide a chains, one or more domains of which are organized in a triple-helical conformation deriving from their $[Gly–X–Y]_n$ composition (6). As such, collagen is a natural material with good biological compatibility that can be degraded into physiologically tolerable compounds (7,8). The pore structure of collagen sponge is ideal for the colonization of seeded cells. Furthermore, collagen sponge is reported to enhance bone formation by promoting the differentiation of osteoblasts. Hydroxyapatite (HA), $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, is one of the extensively used bioceramics for bone and dental tissues reconstruction. It has excellent biocompatibility with hard tissues; it is an osteoconductive and bioactive material with a low degradation rate (9), good mechanical strength and osteoinductive potential (10).

The paper presents synthesis, swelling properties, in vitro degradation tests of collagen-hydroxyapatite composites, in the order to obtain improved bone substitutes. Also, by using a 3D analysis with finite element at bone - synthesised substitute interface the tension in the bone by comparing to bone substitute was determined.

MATERIALS AND METHODS

Collagen type I from tendon bovine source, provided from Sigma-Aldrich, has been used for materials synthesis. Composite materials have been obtained by hydroxyapatite (HA) precipitation from its precursors (aqueous solutions of $CaCl_2$ and NaH_2PO_4), in the presence of NH_4OH and process finalising at 37°C. A mixture of 5%(w/w) collagen paste, 40% (w/w) aqueous solution $CaCl_2$ and 25% (w/w) aqueous solution NaH_2PO_4, was homogenised and the pH was adjusted to 6 by dropping an aqueous solution of NH_4OH (25%,w/w). The obtained mixture was maintained at room temperature for 2hours, filtered and extensively washed with distilled water, poured in a polypropylene matrix (25x 25x5mm) and dried at 37°C, for 24hours. Three types of materials, with different compositions, have been prepared: 75% collagen - 25% HA(w/w)- Coll75-HA; 50% collagen - 50% HA(w/w)- Coll50-HA; 25% collagen - 75% HA(w/w)- Coll25-HA.

Swelling measurements

For swelling experiments, a phosphate buffer solution, PBS, pH 7.2, was prepared by adding appropriate quantities of disodium orthophosphate and citric acid. The swelling properties were determined gravimetrically.

The mass equilibrium degree of swelling, $SD_{eq,}(\%)$, was calculated by using the following relation:

$$SD_{eq} = \frac{m_{eq} - m_0}{m_0} x100$$

In vitro degradation

The in vitro degradation was carried out by immersing the materials in buffered aqueous solution of pH 7.2 containing enzyme ($1x10^{-4}$ g/100 ml of collagenase - Type I A). The standard assay mixture, including the tested material (100 mg) and enzyme solution (50 mL phosphate buffer), was incubated in a shaking water bath (70 shakes/min) at 37^{0}C for 48 hours. After this period of time, the solution was filtered and the degraded collagen was evaluated by absorbance measurement at 540 nm (UV-VIS spectroscopy) of the colored complex formed with biuret reactive.

Mechanical tests and analysis

The modulus of elasticity was calculated from the dependence force versus material's strain. The bone substitutes samples were compressed with forces from 0 to 2500N. The stress, ó, and specific strain, í, were calculated with relations:

$$\sigma = \frac{F}{L \cdot l} \qquad \varepsilon = \frac{\Delta h}{h}$$

where: L is the sample length, l is the sample width and h is the sample height.

From the Hooke law the modulus of elasticity was calculated as:

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon}$$

The 3D analysis with finite element at bone - synthesised substitute interface was performed for a right osteosynthesised fracture from a femur. In this aim in the AutoCAD programm a virtual fracture was applied in a femur and the Coll75-HA composite material was implanted in fractured area. The model was imported in the Algor FEMPRO soft and a force equivalent with that one who acts to femoral head, over the slowly motion (1600N for a person weighting 80kg) was applied.

The used mechanical characteristics were: for bone - modulus of elasticity, E=13 800 MPa and Poisson's coefficient, n=0.34; for bone substitute - modulus of elasticity, E=36.637 MPa and Poisson's coefficient, n=0.4.

RESULTS AND DISSCUSION

Materials swelling in simulated body fluids revealed higher equilibrium swelling degree for HA-collagen composites with increased content of collagen (fig. 1): Coll75-HA composite has a swelling degree around 600% and Coll25-HA composite does not reach a swelling degree of 450%. By covering de collagenic fiber with HA the hydrophilic groups of the biopolymer are hidden for the contact with water molecule and ions from buffered solution and the swelling decreases.

Materials are degraded by collagenase, the degradation rate being strongly dependent by composition; a higher content of collagen makes the composites more sensitive to the specific enzyme (fig. 2). Two steps are responsible of biomaterials degradation: 1) binding of target (biomaterial) by enzyme; 2) specific site cleavage. The degradation intensity is dependent by enzyme (its specificity: large, group, substrate), environmental conditions (pH, ionic strength, enzyme inhibitor presence) and biomaterial (composition, supramolecular structure).

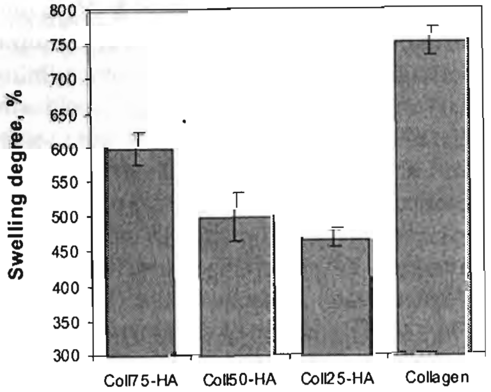


Fig. 1. Swelling degree for collagen- HA composites

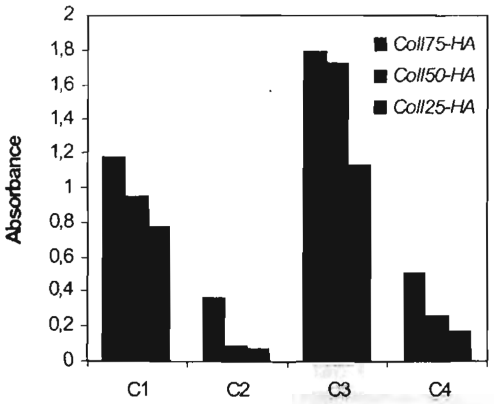


Fig. 2. In vitro degradation of the composite materials.C1-24 h, buffered collagenase; C2-24h, buffer; C3-48h, buffered collagenase; C4-48h, buffer

Collagenase recognizes the following groups of aminoacids: Gly-Leu, Gly-Ile, -Ala-Pro-Gly-/-Leu. By covering the collagenic fibers with hydroxylapatite these aminoacid groups are hindered and the substrate is not able to adopt the proper conformation in the enzyme active sites.

The mechanical characterisation has shown a limit of elasticity at a higher force for Coll25-HA. Over these forces the materials plasticity was observed. The mechanical role of bone substitute is to undertake the tensions in the implanted area. In the same time these tensions will induce specific deformations who contribute to the bone regeneration. Because in the natural bone the most frequent stress is induced by compressions the composite materials have been tested under a variable compression force, from 0 to 2000 N. The force versus strain was registered by measuring the applied force at every 0.1 mm of deformation of the composite materials (fig. 3-8). At each deformation point the medium force obtained was used to calculate the modulus of elasticity and the dependences of the modulus of elasticity versus applied force have been obtained. For the Coll75-HA composite material the modulus of elasticity increase until a force of 700 N, then it decreases again and became stable at a value of 1700 N of the applied force. In materials pure elastics the applied force is proportional with strain and modulus of elasticity is constant. In the case of Coll75-HA composite the modulus of elasticity increasing is considered to be determined by material rigidization: the force increases fast but the strain variation is slowly. Over an applied force of 700N material is compact and the strain decrease.

In Coll50-HA composite the modulus of elasticity increases liniar with applied force. It is expecting as at higher value of the

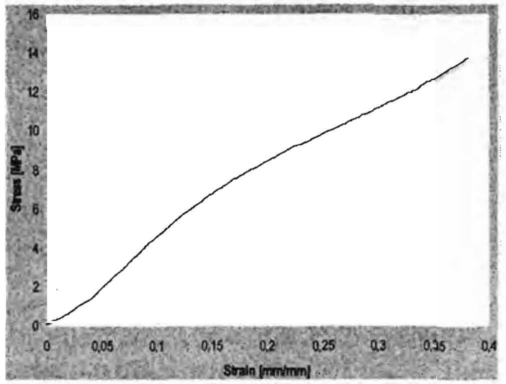


Fig. 3. Applied stress (MPa) versus strain(mm) for Coll75-HA

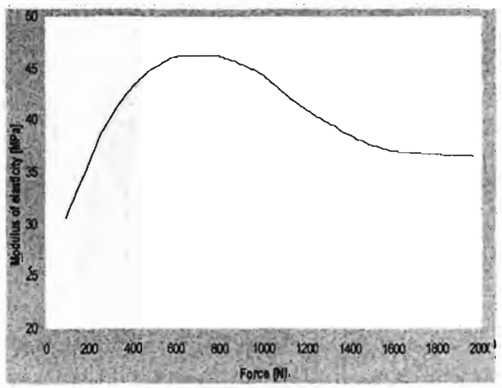


Fig. 4. Elasticity modulus of the Coll75-HA versus applied force

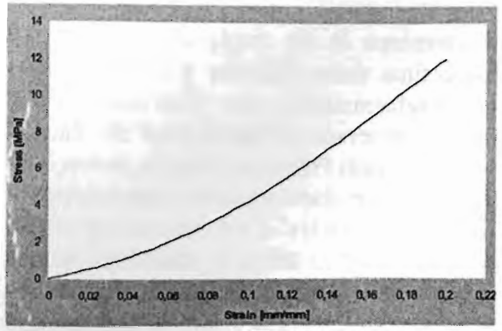


Fig. 5. Applied stress (MPa) versus strain (mm) for Coll50-HA

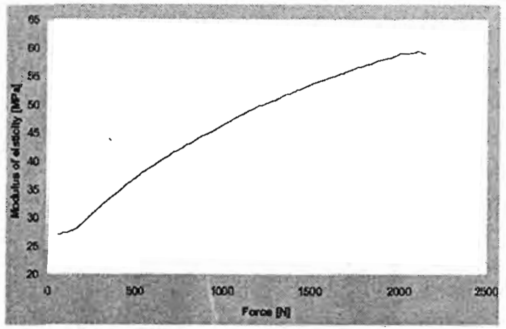


Fig. 6. Elasticity modulus of the Coll50-HA versus applied force

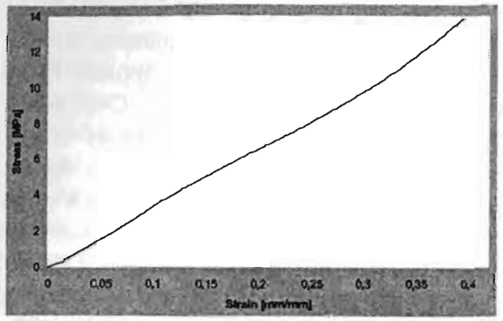


Fig. 7. Applied stress (MPa) versus strain(mm) for Coll25-HA

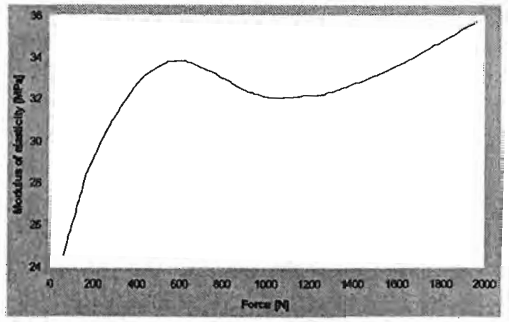


Fig. 8. Elasticity modulus of the Coll25-HA versus applied force

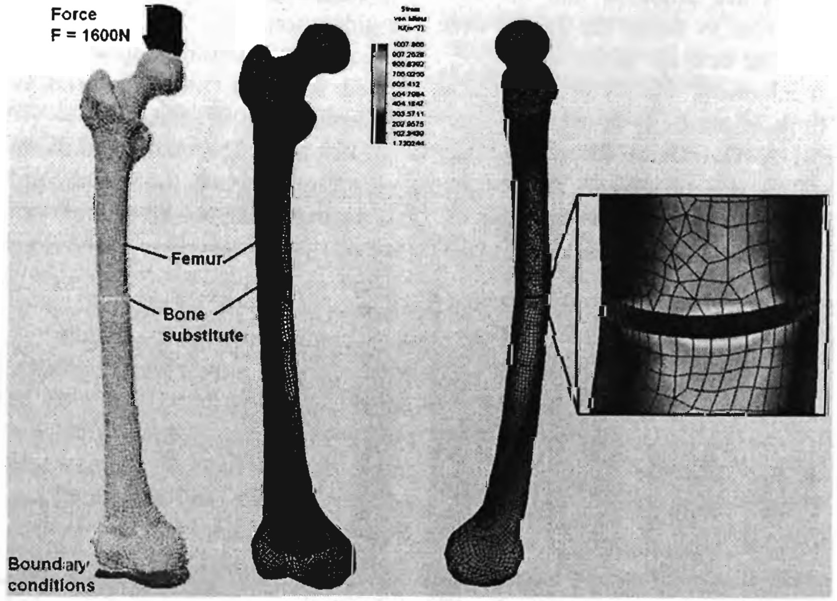


Fig. 9. Finite element analysis at bone – synthesised substitute interface ; Coll75-HA, virtual implantation in a femur

applied force (over the teste values, 2000 N) the material to be fractured or modulus of elasticity to decrease like for Coll75-HA composite. Coll25-HA composite have a similar behaviour as for Coll75-HA but the elastic domain is obtained at lower applied force (1200 N).

Coll75-HA composite materials have better mechanical stability, because of at higher applied forces (over 1700 N, frequently in bone structure of the inferior member) is an elastic matierial. Coll50-HA and Coll25-HA composites are not mechanical stable materials : their stiffness at forces over 1700 N make them able to be broken.

By using the 3D analysis with finite element at bone – synthesised substitute interface a higher tension was determined in the bone by comparison to bone substitute (fig. 9). Generally, the tension distribution at femur diafisis is normal, as a result of the combined of the bending and compression forces. In details, it is observed that the bone has, close to bone substitute, a higher value of the induced tension by comparison with surrounding areas because of the highly different values of the modulus of elasticity of the bone and bone substitute.

In agreement with mechanic-transduction principle (11,12,13), with obtained mechanical parameters for collagen-HA composites, the bone would have an increased regeneration capacity.

CONCLUSIONS

Collagen – hydroxyapatite composites have been synthesised by HA precipitation from its precursors onto collagen fibers. Synthesised composites swelling properties and collagenase induced degradability is highly dependent by the amount of collagen in composition. The superior elasticity properties of the synthesised collagen-HA by comparison to physiological biomechanical limits indicate a good behaviour as resistance bone substitute with applications in the extensive bones reconstruction (endoprosthesis revision, bone infections etc).

REFERENCES

1. Tamura S, Kataoka H, Matsui HY, Shionoya Y, Ohno K, Michi KI, Takahashi K, Yamaguchi A. The effects of transplantation of osteoblastic cells with bone morphogenetic protein (BMP)/carrier complex on bone repair, *Bone* 2001 ; 29 : 169- 175.
2. Yokota S, Sonohara S, Yoshida M, Murai M, Shimokawa S, Fujimoto R, Fukushima S, Kokubo S, Nozaki K, Takahashi K, Uchida T, Yokohama S, Sonobe T. A new recombinant human bone morphogenetic protein-2 carrier for bone regeneration, *Int J Pharm* 2001 ; 223 : 69-79.
3. Yang SF, Leong KF, Du ZH, Chua CK. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part1. Traditional factors. *Tissue Eng* 2001 ; 7 (6) : 679-89.
4. Seal BL, Otero TC, Panitch A. Polymeric biomaterials for tissue and organ regeneration. *Mater Sci Eng Res-Rep* 2001 ; 34 : 147-230.
5. Chen GP, Ushida T, Tateishi T. Scaffold design for tissue engineering. *Macromol Biosci* 2002 ; 2 : 67-77.
6. Nimni ME. *Collagen. vol. I. Biochemistry*. Boca Raton : CRC Press Inc., 1988.
7. Lee CH, Singla A, Lee Y. Biomedical applications of collagen. *Int J Pharm* 2001 ; 221 : 1-22.
8. Friess W. Collagen-biomaterial for drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm* 1998 ; 45 : 113-136.
9. Ducheyne P, Qiu Q. Bioactive ceramics : the effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function. *Biomaterials* 1999 ; 20 : 2287-303.

10. LeGeros RZ, LeGeros JP, Daculsi G, Kijkowska R. Calcium phosphate biomaterials: preparation, properties and biodegradation. In: Wise DL, Trantolo DJ, Altobelli DE, Yaszemski MJ, Gresser JD, Schwartz ER editors. *Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering. Part A: Materials*. vol. II. New York: Marcel Dekker; 1995, 1429-63.
11. Bayraktar HH, Morgan EF, Niebur GL, Morris GE, Wong EK, Keaveny TM. Comparison of the elastic and yield properties of human femoral trabecular and cortical bone tissue. *J Biomechanics* 2004; 37 (1): 27-35.
12. Phillips ATM, Brown DT, Oram TZ, Howie CR, Usmani AS. The elastic properties of morsellised cortico-cancellous bone graft are dependent on its prior loading. *J Biomechanics*, 2006; 39: 1517-1526.
13. Bakker AD, Klein-Nulend J, Burger EH. Mechanotransduction in bone cells proceeds via activation of COX-2, but not COX-1. *Biochem Biophys Res Communications* 2003; 305 (3): 677-683.

NOUTĂŢI

INFECŢIILE SISTEMULUI NERVOS CENTRAL ÎN TIMPUL COPILĂRIEI ŞI RISCUL PENTRU AFECŢIUNI PSIHOTICE ULTERIOARE

Dalman C. şi colaboratorii, de la Departamentul de Epidemiologie Psihiatrică al Institutului Karolinska, Stockholm, Suedia, au efectuat un studiu de cohortă pe un număr de 1,2 milioane copii suedezi născuţi între anii 1973 şi 1985, cu scopul de a investiga dacă există un risc crescut pentru schizofrenie şi alte psihoze non-afective la subiecţii care au suferit infecţii bacteriene sau virale în perioada copilăriei. 2.435 de copii cu vârste între 0 şi 12 ani au fost spitalizaţi pentru infecţii bacteriene ale SNC şi 6.550 pentru infecţii virale. 2.269 subiecţi au fost spitalizaţi pentru afecţiuni psihotice non-afective începând cu vârsta de 14 ani, iar 23 dintre aceştia au fost diagnosticaţi cu infecţii ale SNC în copilărie. Vârsta la debutul psihozei s-a situat, cel mai frecvent, între 18 şi 26 ani. Rezultatele grupului de cercetători au arătat că riscul pentru psihoze non-afective a fost legat de infecţiile SNC cu virus urlian (RR = 2,7) şi citomegalovirus (RR = 16,6). Nu s-a găsit nici o asociere cu infecţiile bacteriene. (Dalman C, Allebeck P, Gunnell D et al. Infections in the CNS during childhood and the risk of subsequent psychotic illness: a cohort study of more than one milion Swedish subjects. *Am J Psychiatry* 2008, 165 (1): 59-65).

Mioara Matei

DISFUNCŢIA MITOCONDRIALĂ ŞI GLAUCOMUL

Glaucomul este recunoscut drept o afecţiune neurodegenerativă, caracterizată prin pierderea accelerată a celulelor ganglionare ale retinei, precum şi a axonilor lor. Incidenţa si prevalenţa glaucomului în unghi deschis se accentuează exponenţial odată cu înaintarea în vârstă, deşi patofiziologia ce însoţeşte procesul de îmbătrânire, ca un factor de risc pentru glaucom, nu este deplin elucidată. Studii recente au evidenţiat faptul că disfuncţiile mitocondriale legate de îmbătrânire joacă un rol cheie în etiologia unor suferinţe neurodegenerative, de tipul sclerozei laterale amiotrofice, bolile Alzheimer şi Parkinson. Cele 2 funcţii majore ale mitocondriilor sunt generarea de ATP prin fosforilare oxidativă şi respectiv reglarea morţii celulare prin apoptoză. Disfuncţiile mitocondriale ce apar odată cu vârsta vor face ca celulele ganglionare ale retinei să fie susceptibile la leziuni glaucomatoase, prin reducerea energiei necesare proceselor reparatorii şi prin predispunerea acestor celule la apoptoză. Elucidarea rolului mitocondriilor în patogeneza glaucomului poate oferi noi repere terapeutice pentru protejarea nervului optic şi pierderea acuităţii vizuale din glaucom (Kong GI et al. Mitochondrial dysfunction and glaucoma, *J Glaucoma* 2009; 18 (2): 93-100).

Carmen Zamfir

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

BIOINGINERIE MEDICALĂ **ARTICOLE ORIGINALE**

MODELAREA BIOMECANICĂ A GENERĂRII ANEVRISMELOR CEREBRALE

Fl. Munteanu[1], I. Poeată[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr.T. Popa” Iaşi
Facultatea de Bioinginerie Medicală
1. Disciplina de Biomecanică
2. Disciplina de Neurochirurgie

BIOMECHANICAL MODELLING OF CEREBRAL ANEURYSM GENERATION (Abstract): The mechanisms of production for these aneurysms were not very well explained, therefore, the paper presents the conditions and steps in this vascular deficiency generation. **Material and methods**: The physiological overpressures were evaluated and the role of the compliance and hydraulic strength was determined by using windkessel model. **Results**: The mathematichal model was performed on the internal carotid artery and it reveals the role of blood vessel compliance and the increasing of hydraulic vascular - parietal resistance, caused by the contractile dysfunctions of pre-capillary sphincters during the appearance of sac-like and physiological forms of aneurisms. **Key words**: ANEURISM, OVERPRESSURE COMPLIANCE, CIRCUMFERENTIAL STRESS

Pe plan mondial s-au diverse studii referitoare la generarea anevrismelor cerebrale sau abdominale. În lucrarea de faţă se propune un model matematic care pune în evidenţă factorii care pot declanşa apariţia unui anevrism. Explicarea apariţiei anevrismelor ia în consideraţie, în anumite circumstanţe, creşterea rezistenţei periferice care are ca efect generarea unei suprapresiuni la nivelul ramificaţiilor şi curburilor din reţeaua vasculară. Din această perspectivă, modelul pe care lucrarea îl propune, cu referire la o arteră carotidă internă, pune accentul pe rolul complianţei vasului sanguin, a creşterii rezistenţei hidraulice vasculo-paritale cauzată de disfuncţiile contractile ale sfincterelor precapilare, în generarea anevrismelor de tip sacular sau fiziform.

MATERIAL ŞI METODĂ

Tensiunile în peretele arterial

Se consideră un cilindru de grosime h de rază interioară R_i, rază exterioară R_e, asupra căruia acţionează o presiune transmurală $p = p_i - p_e$ (fig. 1).

În această situaţie se pot defini trei tipuri de tensiuni: tensiunea radială σ_r care dimensiune de tensiune superficială şi este normală la peretele tubului, tensiunea circumferenţială σ_c care este tangentă la peretele tubului dar normală la axul acestuia şi tensiunea longitudinală σ_l care este paralelă cu axul tubului (fig. 1). Ele se definesc astfel:

$$\sigma_r = p_i \cdot R_i \quad \sigma_c = \frac{p_i \cdot R_i}{h} \quad \sigma_l = \frac{p_i \cdot R_i}{2 \cdot h} \quad (1)$$

Determinarea presiunii transmurale

Se porneşte de la modelul windkessel (1,2,3) care stabileşte legătura dintre:

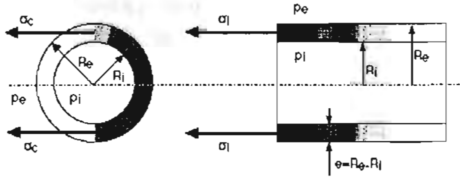


Fig. 1. Tensiunile în peretele arterial

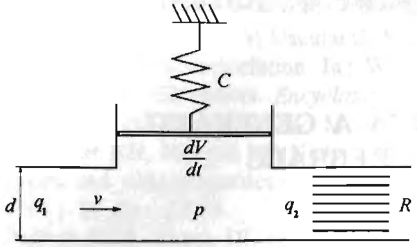


Fig. 2. Modelul windkessel

- debitul prin vasul sanguin q;
- presiunea statică p (perpendiculară pe peretele vasului);
- complianța vasului C (se exprimă ca inversul modulului de elasticitate volumic);
- rezistența hidraulică R a rețelei vaselor sanguine (fig. 2).

Dacă la intrare avem debitul q_1 iar la ieșire este debitul q_2, trebuie luată în considerare și variația volumului vasului sanguin în funcție de timp: dV/dt și conform ecuației de continuitate a debitului:

$$q_1 = \frac{dV}{dt} + q_2 \quad (2)$$

Se înmulțește și se împarte cu dp, deci:

$$q_1 = \frac{dV}{dp}\cdot\frac{dp}{dt} + q_2 \quad (3)$$

Știind că $C = dV/dp$ și că legătura dintre rezistența hidraulică R, debitul de ieșire q_2 și presiunea p este $q_2 = p/R$, ecuația (3) devine:

$$q_1 = C\cdot\frac{dp}{dt} + \frac{p}{R} \quad (4)$$

Ecuația diferențială descrisă de (4) stabilește legătura dintre debitul de intrare și presiunea din punctul considerat.

Pentru a putea determina variația de presiune, conform (4), am ales exemplul arterei carotide interne (ACI), la care raza externă este r = 2,56 mm, grosimea peretelui vascular este h = 0,34 mm, viteza maximă de curgere este $\mathrm{v}_{\max}$ = 62,7 cm/s (627 mm/s), iar viteza minimă de curgere este $\mathrm{v}_{\min}$ = 29,3 cm/s (293 mm/s).

Aproximarea variației în timp a debitului este dată de expresia:

$$q(t) = k\left(\frac{\mathrm{v}_{\max}}{2} - \mathrm{v}_{\min}\right)\pi r^2\left[1-\cos(\pi t)\right]e^{-\frac{t}{0.08}} + \mathrm{v}_{\min}\pi r^2$$

sau, știind că $q_{\max} = \mathrm{v}_{\max}\pi r^2$ și $q_{\min} = \mathrm{v}_{\min}\pi r^2$

$$q(t) = k\left(\frac{q_{\max}}{2} - q_{\min}\right)\left[1-\cos(\pi t)\right]e^{-\frac{t}{0.08}} + q_{\min} \quad (5)$$

unde k = 973,2 este un factor de corecție.

În continuare se va afla expresia variației presiunii în funcție de timp, prin rezolvarea ecuației diferențiale (4), știind că presiunea minimă (sistolică) este p_m = 90 mmHg, iar presiunea maximă (diastolică) este p_M = 110mmHg:

$$p(t) = e^{\frac{-t}{R\cdot C}}\cdot\left[p_s + \int_0^t q(\theta)\cdot e^{\frac{\theta}{R\cdot C}}\cdot d\theta\right] \quad (6)$$

Expresia anterioară devine:

$$p(t) = e^{\frac{-t}{\tau}}\left\{p_m + \frac{t}{C}\left[qk + q_{\min}\right] - \frac{\lambda q k e^{\frac{t}{\lambda}}}{C\left(\lambda^2-1\right)}T\pi + q\frac{k}{C}\right\}$$

(7), unde $q = \frac{q_{\max}}{2} - q_{\min}$, $\tau = R\cdot C$,

$$T = \cos\pi t + \frac{\pi}{\lambda}\sin\pi t, \quad \lambda = \frac{0{,}08-\tau}{\tau\cdot 0{,}08}.$$

Pentru a putea determina variația presiunii în funcție de timp, mai rămân de determinat două mărimi: complianța și rezistența hidraulică.

Complianța

Această mărime nu este constantă ci depinde de timp, în funcție de presiune. Conform (3), expresia complianței este:

$$C(t) = \frac{2\cdot\pi\cdot r^3(t)\cdot\left(1-\mu^2\right)}{h\cdot E} \quad (8)$$

unde: $r(t)$ este variația razei vasului sanguin în timp (ACI), E = 0,8 MPa modulul de elasticitate al vasului, μ = 0,5 coeficientul lui Poisson al vasului (6).

Variația razei (în funcție de presiune statică $p_s(t) = p(t)$) este (fig. 3):

$r(t) = r + u_r(t)$ unde,

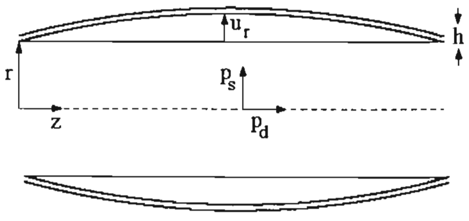


Fig. 3. Deformarea peretelui arterial sub acțiunea presiunii statice p_s

$$u_r(t) = \frac{p(t)\cdot r^2\cdot\left(1-\mu^2\right)}{h\cdot E} \quad (9)$$

Rezistența hidraulică

Rezistența hidraulică are expresia:

$R(t) = \frac{p(t)}{q_2(t)}$ unde

$$q_2(t) = q(t) - \frac{dV}{dt} = q(t) - \frac{d\left(q(t)\cdot t\right)}{dt} \quad (10)$$

Pentru că debitul este volumul supra timp, am scris că volumul este produsul dintre debit și timp $V = q(t)\mathrm{x}t$.

Variația presiunii

Se introduc expresiile (8) - a complianței și (10) - a rezistenței hidraulice în (7) - a presiunii.

Rezultă o ecuație transcedentală în care necunoscuta este $p(t)$. Înlocuind valorile cunoscute, rezultă din (7) variația presiunii în funcție de timp, reprezentată în fig. 4.

Calculele făcute până acum se referă la situația în care ACI este fără curburi și ramificații. În continuare se va calcula presiunea pentru cele două cazuri în care apar curburi și ramificații.

Cazul curburii

În fig. 5, este reprezentată variația vitezei pe secțiune în funcție de unghiul dintre axele de intrare și de ieșire ale curburii (7).

Distribuția de viteze (7) face ca la peretele exterior să nu acționeze numai presiunea statică p_s ci și cea dinamică p_d. Presiunea ce acționează pe direcția bisectoarei unghiului α, $P(t)$ (fig. 5), exprimată ca forță unitară este (8):

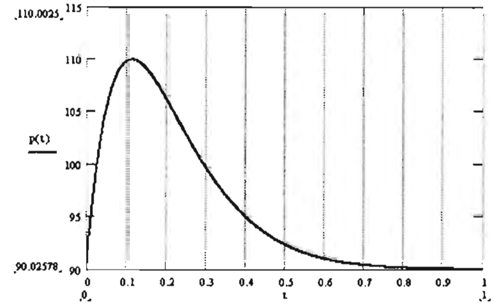


Fig. 4. Variația presiunii în funcție de timp (presiunea - mmHg, timpul - secunde)

$$P(t) = \sqrt{\left[\Psi\cdot(1-\cos\alpha)\right]^2 + \left[\Psi\cdot\sin\alpha\right]^2} \quad (11)$$

$$\Psi = q(t)\left(\rho\mathrm{v}(t) + \frac{p(t)}{\mathrm{v}(t)}\right)$$

unde: ρ = 1,05 g/cm³, v(t) este variația vitezei.

Cazul ramificației

În fig. 6 este reprezentat cazul unei ramificații, în care cele două ramuri, de raze r_1 și r_2, sunt înclinate față de axul vasului din care se desprind ramurile cu unghiurile α și β.

La fel ca și în cazul curburii, în punctul de joncțiune dintre ramuri acționează atât presiunea statică cât și cea dinamică.

Acest lucru duce la o creștere considerabilă a presiunii asupra joncțiunii în comparație cu presiunea ce se dezvoltă la un perete al unui vas drept.

Ca și în cazul precedent, expresia presiunii asupra joncțiunii (fig. 6) este:

$$\begin{aligned}P(t) &= \rho v(t)\left(q(t) - q_1(t)\cos\alpha - q_2(t)\cos\beta\right) + \\ &+ \pi\cdot\left(r^2 p(t) - r_1^2 p(t)\cos\alpha - r_2^2 p(t)\right)\cos\beta\end{aligned} \quad (12)$$

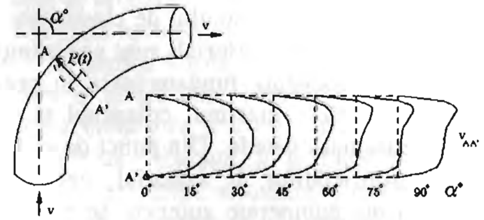


Fig. 5. Variația vitezei pentru o curbură

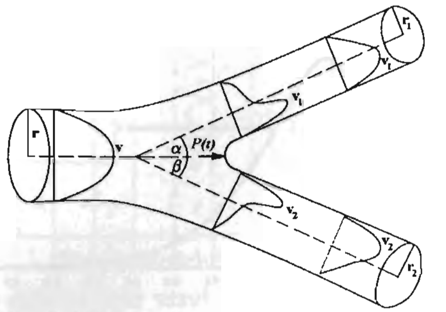


Fig. 6. Variaţia vitezei pentru o ramificaţie

conform ecuaţiei de continuitate a debitului: $q(t) = q_1(t) + q_2(t)$. Presiunea nu are o modificare substanţială, astfel încât considerăm că presiunile statice din cele două ramuri sunt egale cu presiunea maximă din vasul principal. De asemenea, tot din considerentul egalităţii presiunilor, şi presiunile dinamice sunt egale, implicit şi vitezele prin cele două ramuri sunt egale cu cea din vasul principal (3).

Am considerat situaţia în care $q_1(t) = 0{,}25 \times q(t)$ şi $q_1(t) = 0{,}75 \times q(t)$.

Ştiind că debitul este egal cu produsul dintre viteză şi secţiune, din calcul rezultă $r_1 = 1$ mm şi $r_2 = 1{,}732$ mm.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Influenţa complianţei asupra generării anevrismelor

Analizând formula complianţei descrisă anterior (8), se observă că deformaţia radială este direct proporţională cu presiunea şi invers proporţională cu modulul de elasticitate al vasului sanguin. În momentul în care, din diferite motive, presiunea creşte, creşte deformaţia radială şi implicit complianţa.

Se ia în discuţie creşterea complianţei ca urmare a scăderii modulului de elasticitate.

Pereţii vasculari arteriali sunt constituiţi din trei componente fundamentale în proporţie variabilă: elastina, colagenul şi fibrele musculare netede. Din punct de vedere al proprietăţilor de material, cele trei componente enumerate anterior, se pot caracteriza astfel:

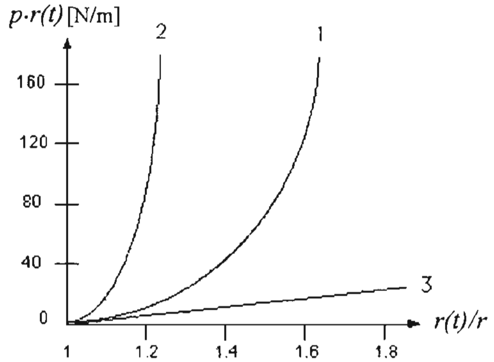


Fig. 7. Diagrama alungire - tensiune radială a unei artere iliace: 1 - ţesut proaspăt; 2- ţesut fără elastină, 3 - ţesut fără colagen

- *fibrele de elastină* - sunt elastice, cu modulul lui Young 3×10^5 N/m^2 = 0,3 MPa. Ele au o rezistenţă la oboseală destul de ridicată şi pot fi deformate ciclic fără ca limita lor de elasticitate să se modifice;
- *fibrele de colagen* - sunt mai puţin elastice, iar modulul de elasticitate are valoare de 3×10^8 N/m^2 = 0,3 GPa;

fibrele musculare netede - sunt într-o tensiune activă, iar modulul de elasticitate poate varia între 6×10^3 N/m^2 şi 6×10^6 N/m^2.

În funcţie de aceste componente, comportarea reologică a pereţilor arteriali este dependentă de cea a elastinei pentru presiuni mici şi de cea a colagenului pentru presiuni mari (fig. 7) (1).

Tensiunea cea mai mare care solicită atât fibrele de colagen cât şi cele de elastină este cea circumferenţială. Din experimentele făcute în (5) asupra unei ACI a rezultat diagrama ilustrată în fig. 8.

Înlocuind valorile cunoscute (ACI), în care luăm în considerare presiunea internă maximă pentru cazul unei curburi de 90°, $p_{\max,90} = 325{,}77$ mmHg = $325{,}77 \times 133{,}3/10^3$ = 43,425 kPa, 1000 mmHg = 133,3 kPa) şi deformaţia radială $r_{\max,90} = 3{,}968$ mm (9) tensiunea circumferenţială este:

$$\sigma_c = \frac{p_{\max,90} \cdot r_{\max,90}}{h} = \frac{43{,}425 \cdot 3{,}968}{0{,}34} = 0{,}495\text{MPa}$$

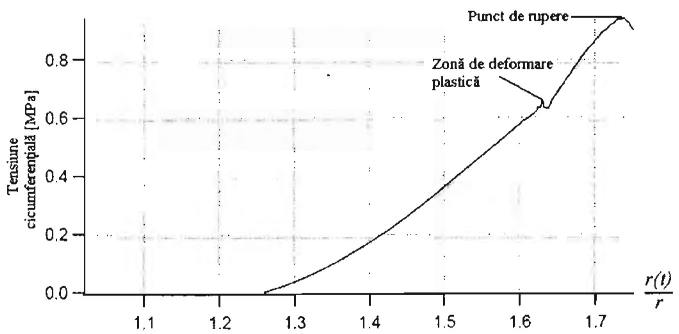


Fig. 8. Variaţia tensiunii circumferenţiale în funcţie de deformaţia radială

Analizând diagrama precedentă, se observă că tensiunea calculată este sub cea de deformare plastică. Pentru a se depăşi tensiunea de deformare plastică (caz în care se formează anevrismul) ar trebui ca:

- presiunea maximă $p_{\max} > 600$mmHg;
- deformaţia radială $r_{\max} > 7{,}5$mm;
- grosimea peretelui $h < 0{,}18$mm.

Creşterea de presiune se poate pune pe seama creşterii rezistenţei hidraulice.

Creşterea deformaţiei radiale poate fi efectul, pe de o parte, creşterii de presiune (9) sau scăderii modulului de elasticitate (situaţie patologică în care fibrele de colagen sunt fragile).

Scăderea grosimii peretelui poate fi pusă, de asemenea, pe seama unei patologii zonale a arterei.

Dacă nu luăm în considerare situaţia în care avem o creştere de presiune, ci numai situaţia în care rezistenţa mecanică a arterei este scăzută (modul de elasticitate mic sau grosime mică a peretelui arterial), se poate trage concluzia că în punctele de presiune ridicată (curburi, ramificaţii) probabilitatea de generare a anevrismelor este foarte mare.

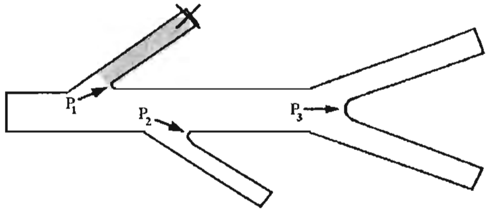


Fig. 9. Reprezentarea schematică a situaţiei în care în aval de o ramificaţie apare o obstrucţie

Influenţa rezistenţei hidraulice asupra generării anevrismelor

Se revine la formula de definiţie a rezistenţei hidraulice $R(t)$ (15). Creşterea rezistenţei hidraulice este rezultatul, fie a creşterii de presiune, fie a scăderii debitului din aval $q_2(t)$. În general, rezistenţa hidraulică variază între anumite limite (0,14-0,25 mmHg × s/mm^3 în aval de ACI, (10)). Există, însă, situaţii în care pentru un timp destul de scurt ori scade debitul din aval (scădere de secţiune), ori creşte presiunea.

Să presupunem situaţia în care, în aval de o ramificaţie, apare o obstrucţie pe o anumită ramură (fig. 9). Obstrucţia respectivă generează fenomenul loviturii de berbec care în (8) este descris astfel: „Lovitura de berbec este un fenomen de mişcare rapid variabil, caracterizat prin apariţia şi propagarea sub formă de unde a unor variaţii mari de presiune în conductele prin care curg lichide, cu luarea în considerare a compresibilităţii lichidului. Se genereaza, în mod ciclic, o suprapresiune urmată de o subpresiune, ce scad în intensitate în timp, care se propagă în lungul conductei, solicitând conducta asemenea unor lovituri puternice."

În figura 9 este reprezentată situaţia în care o arteră este obturată (obturaţia am reprezentat-o cu o cruce). În urma obturării se produce fenomenul loviturii de berbec în zona gri, fiind afectată şi joncţiunea asupra căreia acţionează presiunea P_1. Practic, în acest loc, datorită apariţiei unor suprapresiuni însemnate este foarte posibilă ruperea fibrelor de colagen din structura joncţiunii (în această zonă se manifestă un şoc de intensitate destul de mare) şi, implicit, formarea unui anevrism sacular (acţiunea este punctuală, în zona de suprapresiune).

Pe de altă parte, datorită continuităţii debitului, în condiţiile în care apare obstrucţia, viteza după prima ramificaţie se măreşte, ceea ce duce implicit la creşterea presiunii dinamice, deci, şi a unei suprapresiuni P_2 ce acţionează în ramificaţia a doua. Deşi $P_2 < P_1$ (propagarea loviturii de berbec nu mai are influenţă aşa mare) şi în a doua ramificaţie este posibilă apariţia unui anevrism sacular.

Probabilitatea apariţiei unui anevrism sacular în ramificaţia a doua este cu atât mai mare cu cât distanţa dintre prima şi a doua ramificaţie este mai mică. Dilataţia peretelui arterial (sau mărirea suprafeţei), împreună cu lungimea, nu asigură un volum suficient de preluare a debitului din amonte, ceea ce generează o creştere a presiunii în peretele arterial (debitul este mai mare decât cel fiziologic, iar presiunea este direct proporţională cu debitul.

Dacă şi distanţa dintre a doua ramificaţie şi a treia este foarte mică, este posibilă formarea unui anevrism sacular şi în ramificaţia trei (din aceleaşi considerente menţionate anterior).

Trebuie menţionat că acest fenomen este tranzitoriu, de scurtă durată (până se ajunge la revenirea parametrilor fiziologici), dar suficient ca să dezvolte un anevrism sacular singular sau anevrisme în cascadă.

CONCLUZII

Rezistenţa mecanică scăzută a vaselor sanguine, duce la apariţia în ramificaţii a anevrismelor „în trunchi de con" iar la curburi a celor „simetrice" ;

Apariţia unei suprapresiuni într-un anumit punct al circuitului duce la apariţia anevrismelor de tip sacular ;

Apariţia anevrismelor este posibilă numai la vasele ce se află în vecinătatea LCR deoarece presiunea transmurală este de valoare ridicată ($p_{LCR} = 3$ mmHg (11)).

BIBLIOGRAFIE

1. Finet G. *Biomecanique Coeur-Vaisseaux*. Lyon : Universite de Lyon, 2002.
2. Luo XZ. *Fundamental Biomechanics*. University of Sheffield, Dept. Mechanical Engineering, 2001.
3. Van de Vose FN, Van Dongen MEH. *Cardiovascular Fluid Mechanics*. Eindhoven : University of Technology, Faculty of Mechanical Engineering, 2000, 234-293.
4. Viedma A, Jimenez-Ortiz C. Extended Willis circle model to explain clinical observation in periorbital arterial flow. *J Biomech* 1997 ; 30 (3) : 265-272.
5. Monson V. *Mechanical and Failure Properties of Human Cerebral Blood Vessels*. Dissertation for the Degree PhD. Berkeley : University of California, 2001, 121-143.
6. Wang JJ, Parker KH. Wave propagation in a model of the arterial circulation. *J Biomech* 2004 ; 37 (4) : 457-470.
7. Gijsen FJH. The influence of the non-Newtonian properties of blood on the flow in small arteries : unsteady flow in a 90° curved tube. *J Biomech* 1999 ; 32 : 705-713.
8. Florea J, Panaitescu V. *Mecanica fluidelor*. Bucureşti : Ed. Didactică şi Pedagogică, 1980.
9. Schilt St. The effects of time-varying curvature on velocity profiles in a model of the coronary arteries. *J Biomech* 1996 ; 29 (4) : 469-474.
10. Dash RK, Jaiaraman G. Estimation of increased flow resistance in a narrow catheterised artery. A theoretical model. *J Biomech* 1996 ; 29 (7) : 917-930.
11. David G, Humphrey JD. Further evidence for the dinamic stability of intracranial saccular aneurysms. *J Biomech* 2003 ; 36 (3) : 1143-1150.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2009 - vol. 113, nr. 1

VARIA

EVOLUŢIONISM ŞI CREAŢIONISM

Charles Darwin (1809-1882), creatorul teoriei evoluţioniste moderne, descendent al unei familii de medici englezi, urmând el însuşi studii universitare medicale apoi teologice, nu a renunţat la preocupările sale în domeniul ştiinţelor naturale.

Astfel, începând din 1831, timp de 5 ani a participat ca naturalist la expediţia organizată în jurul lumii cu bricul *Beagle*, făcând observaţii ştiinţifice şi colectând numeroase mostre de animale, plante, minerale etc.

La întoarcere, timp de 22 de ani clasifică şi studiază materialul biologic adunat, după care în 1859, la vârsta de 50 de ani, publică lucrarea sa fundamentală *Originea speciilor*.

Diferenţa dintre fauna din arhipelagul insulelor *Galapagos*, situat în Oceanul Pacific, la ecuator, unde s-au păstrat unele animale care au dispărut în alte zone de pe glob (broaşte ţestoase uriaşe, iguane, tatuu ş.a.) şi America de Sud, i-a sugerat teoria evoluţionistă. Potrivit acestei teorii diversitatea vieţuitoarelor pe planeta Pământ este rezultatul evoluţiei prin selecţie naturală datorită luptei pentru existenţă.

Noţiunea de evoluţie (dispariţia unor specii şi apariţia altora noi) nu trebuie confundată cu cea de dezvoltare (variaţii în interiorul aceleiaşi specii, de ex. : transformarea ghindei în stejar, a ovulului fecundat în făt ş.a.m.d.).

Ideea evoluţiei speciilor a fost intuită de *Erasmus Darwin*, medic şi naturalist, bunicul său, în 1794 şi naturalistul francez *Jean Lamarck*, dar *Charles Darwin* a pus bazele ştiinţifice teoriei evoluţionismul, aducând dovezi materiale şi precizând mecanismul prin care se produce evoluţia plantelor şi animalelor – selecţia naturală.

Teoria evoluţionistă a lui *Charles Darwin* este urmată de descoperirea legilor eredităţii de către călugărul austriac *Gregor Mendel*, publicate în 1866, potrivit cărora caracterele naturale ale părinţilor se transmit urmaşilor prin gene (segmente de ADN situate în cromozomii din nucleul celulelor). Astfel, genetica completează darwinismul.

După 150 de ani de la apariţia *Originei speciilor* din ce în ce mai mulţi savanţi elaborează lucrări care revizuiesc bazele darwinismului.

Combaterea teoriei evoluţioniste a lui *Darwin* se bazează pe lipsa formelor intermediare (fosilelor) şi prezenţa mutaţiilor, care permit reluarea teoriei catastrofelor naturale (de ex. : Potopul biblic, dispariţia dinozaurilor ş.a.) şi sugerează existenţa unui Creator.

Creaţionismul se sprijină pe învăţătura sfinţiilor părinţi (patristică) din primele secole ale creştinismului (*Ioan Gură de Aur*, *Sfântul Vasile cel Mare*, *Sfântul Augustin*, ş.a.). Există şi un Institut al Creaţionismului în San Diego (USA).

Între Tigru şi Eufrat (teritoriul actual al Irakului) este localizat Raiul biblic, care a suferit mai multe potopuri locale (dovedite de săpăturile arheologice). Iniţial a existat şi un Potop general, peste întregul glob pământesc (dovezi : prezenţa scoicelor pe vârful munţilor, straturile cu roci sedimentare şi fosile în Marele Canion din Colorado (USA) şi în alte părţi ale globului, iar la noi în ţară Dealul Repedea de lângă Iaşi, rezervaţie UNESCO).

În Cap. I. Facerea lumii din Vechiul Testament, Dumnezeu a făcut cerul, pământul, apele, plantele, animalele şi omul în şase zile. După creaţionismul modern o zi biblică are durată nelimitată, de milioane de ani, care corespunde cu o eră geologică pentru evoluţionism.

Biblia datează vechimea omenirii la 7000 de ani. După datele ştiinţei omul primitiv, respectiv Homo sapines a apărut cu circa 50.000 de ani în urmă, iar Homo neanderthalensis cu o vechime şi mai mare de 150.000 de ani, la începutul erei cuaternare, când s-a produs o răcire a climei, fiind contemporan cu unele animale dispărute (mamutul, ursul de peşteră, ş.a.) şi cu altele care au supravieţuit până în zilele noastre (elefantul, rinocerul, crocodilul, renul etc.).

Adam (pământ) şi Eva (viaţă) conform Bibliei au fost primii oameni, Eva fiind desprinsă din coasta lui Adam. Puţinele descoperiri arheologice şi absenţa fosilelor umane intermediare sunt în favoarea teoriei creaţioniste. Cu privire la acest aspect biblic ştiinţa aduce dovezi interpretabile. Astfel, există posibilitatea obţinerii unor indivizi normali la unele specii de plante (de ex. tutunul) direct din polen (gametul masculin), fără fecundare, prin fenomenul de partenogeneză.

Dar cum s-au înmulţit oamenii dacă primul cuplu, Adam şi Eva, au avut doi fii, Cain şi Abel, ultimul fiind omorât de fratele său ? Probabil că iniţial au existat mai multe Eve şi Adami.

Evoluţia omului, *fiinţă bio-psiho-socială* (termen conceput de *Petre Brânzei*, profesor de psihiatrie la Iaşi şi preluat de OMS), se produce şi în prezent, dar nu pe plan anatomic şi fiziologic, ci spiritual şi moral. Deşi oamenii au trăsături biologice comune, fizic şi temperamental nici o persoană nu este identică una cu alta. În context reamintim reflexiile lui *Alexis Carrel* (Premiul Nobel pentru medicină, 1912), care în cartea sa *Omul, fiinţă necunoscută* precizează: „Medicina modernă trebuie să ţină seama de natura omului, unitatea şi unicitatea acestuia”.

Ambele teorii au ca punct de întâlnire comun, momentul iniţial (big bang-ul) când s-a format Universul şi procesele chimice au dus la transformarea substanţelor anorganice în organice - apariţia vieţii pe pământ, însă impulsul care a determinat aceste schimbări este interpretat diferit, pentru evoluţionism- o energie primordială (posibil demonstrabilă cu ajutorul Acceleratorului Internaţional de Particule) sau lege generală, iar pentru creaţionism - Creatorul supranatural.

Acest aspect face ca teoria evoluţionistă modernă să devină compatibilă cu ideile religioase, în special creştine. Caracteristica creştinismului ortodox românesc, dealtfel şi a poporului român, este toleranţa (*Simion Mehedinţi*). Datorită spiritului permisiv al ortodoxismului românesc, unii intelectuali printre care şi medici, fără o pregătire teologică, au avut preocupări şi în acest domeniu şi invers, printre reprezentanţii culturii naţionale sunt şi clerici.

În 2008 pentru prima dată Biserica catolică (Vaticanul) a declarat că „Teoria evoluţiei este în acord cu Biblia”, iar părintele *Serafim Rose* completează: „Ateismul în religie şi agnosticismul în ştiinţă incontestabil vor intra în declin”.

Continuu se aduc argumente pro- şi contra evoluţionismului şi creaţionismului. Aceste discuţii sunt cel mai bine caracterizate de ultimele cuvinte ale *Papei Ioan Paul al II*$^{-lea}$, un mare umanist: „Viaţa este o enigmă”.

Cu toate cuceririle ştiinţei moderne, problema apariţiei şi evoluţiei vieţii pe pământ, deşi a depăşit stadiul ipotezelor, nu este complet elucidată, dialogul rămânând deschis.

Articolul de faţă nu invită la opţiune, ci la reflexie, rolul autorului fiind numai de moderator.

L. Domnişoru

IN MEMORIAM

PROF. DR. VEACESLAV CARASIEVICI
(8 octombrie 1921 - 5 aprilie 2008)

UN MODEL PENTRU DISCIPOLI

Se spune că ne naştem cu nevoia de modele şi că le căutăm toată viaţa !

Cele mai multe dintre modelele care ne străbat existenţa nu merită prea multă atenţie. Rămân şi-şi pun amprenta asupra devenirii noastre modelele-personalităţi, care ne impresionează profund pentru că, de fapt, sunt excepţii. Fascinaţia noastră faţă de modele izvorăşte din respectul pe care îl purtăm şi-l datorăm celor care au reuşit să-şi valorifice inteligenţa, talentul şi învăţătura, poate şi din dorinţa, lipsită de invidie, de a fi asemenea lor.

Profesorul Veaceslav Carasievici este una din personalităţile care au marcat evoluţia şcolii de reumatologie şi balneologie din Iaşi, şi nu numai.

Este un model: este original, n-a copiat pe nimeni! N-a respectat regulile pentru că n-a acceptat să se lase înghiţit de tumultul diverselor curente şi tendinţe, dar a căutat ce-a fost mai bun din el, oferind cu generozitate, o mare parte din viaţa lui, celorlalţi: discipolilor şi bolnavilor.

Şi-a croit singur drumul în viaţă şi a muncit din greu pentru a pune piatră peste piatră la construcţia unei viziuni asupra vieţii şi profesiunii de medic.

Profesorul Veaceslav Carasievici s-a născut în anul 1921 la 8 octombrie în Basarabia, la Olăneşti. După studiile primare şi liceale a trecut dincoace de Prut, în cetatea eternă a Moldovei - oraşul Iaşi, unde a studiat în continuare şi s-a format ca specialist balneo-reumatolog. După absolvirea Facultăţii de Medicină din Iaşi, în anul 1948, a activat ca medic secundar la Sanatoriul Balnear Vatra Dornei. S-a lansat apoi în cariera universitară, parcurgând toate gradele didactice, devenind apoi, ca succesor al profesorului Petre Balmuş, şeful Clinicii de balneo-reumatologie a Spitalului de Recuperare din Iaşi, la fondarea şi realizarea căruia a contribuit, decisiv. În colaborare cu arhitectul Cezar Dariescu a conceput şi realizat planurile spitalului, primul de acest fel din România şi care, în primăvară trecută a aniversat trei decenii de la inaugurare, în zilele în care profesorul, însingurat şi pe tăcute, a hotărât să treacă Stixul. Este fondator al complexului balneo-fizio-terapeutic şi al bazei de tratament, de realizarea căreia s-a ocupat în mod particular. Profesorul a ştiut întotdeauna să îmbine cu succes aspectele teoretice cu cercetarea şi practica medicală, fiind autor a numeroase lucrări ştiinţifice aflate astăzi la loc de cinste în baze de date internaţionale, dar şi al unor invenţii, inovaţii şi noi procedee în sfera investigaţiilor şi tratamentului bolilor reumatismale.

A fost dedicat profesiunii: era sever atât cu colaboratorii cât şi cu bolnavii, dar atitudinea sa era în favoarea celor care au dorit să înveţe, să se perfecţioneze ori să-şi trateze corect afecţiunile. Judeca drept, lipsit de prejudecăţi şi patimă, dar nu se considera infailibil. Cerea părerea celorlaţi, asculta cu interes, se informa, cugeta şi uneori recunoştea că s-a înşelat. Modestia lui era nedisimulată. A traversat vremuri tulburi, evoluţia lor marcându-i destinul comun, dar a lăsat nealterate integritatea şi ierarhia valorilor. Discret şi sensibil, dar adept al valorilor certe, a refuzat să se retragă într-o nemeritată izolare şi a continuat să-şi exercite profesiunea cu aceeaşi seriozitate şi profunzime.

Dar, mereu a mai rămas loc şi pentru altceva.

Adesea profesorul pleca în singurătate, undeva unde se simţea mult mai puţin singur decât era, ca într-un act artistic, al resemnării creative: pe malul gârlei, lacului, râului, fluviului sau pe ţărmul mării, unde asculta şi înţelegea glasul naturii care l-a primit de fiecare dată cu braţele deschise şi i-a inoculat forţa şi tăria de a rămâne mereu tânăr. A fost un pasionat al pescuitului, perceput ca un mod extrem de eficient de relaxare şi de dialog cu sine însuşi. Ca şi pentru Iona, personajul lui Marin Sorescu, a pescui însemna libertate. Iubea muzica, îi alina tristeţea Balada lui Ciprian Porumbescu, iubea mult florile, nu lipsea decât iarna de pe biroul său o crenguţa de caprifoi pe care o aducea de sub fereastra casei sale.

În cabinetul său de la Spitalul de Recuperare, în care acum pâlpâie trist şi timid flacăra unei candele, bolnavii pe care-i consulta cu deosebită atenţie şi profesionalism puteau să admire un tablou - al unui pictor anonim sau consacrat, n-avea nici o importanţă - chipul profesorului contopit cu trunchiul şi coroana unui copac. După dispariţia sa a dispărut şi tabloul: cineva care-l preţuia mult pe profesor s-a gândit să-l pună într-un loc mai potrivit cu sensul metaforei ce-o conţine. În pofida vârstei, impunea prin vitalitatea şi vioiciunea spiritului său care era de o tinereţe debordantă. Uimitoare şi reconfortantă aceasta asociere de tinereţe şi înţelepciune. În preajma lui puteai înţelege de ce unii oameni sunt înconjuraţi cu mai mult decât respect şi dragoste, cu veneraţie.

Şi, printre tomuri, tratate de specialitate, fişe ale pacienţilor, a existat mereu o carte de suflet - cel mai adesea, în ultima vreme „Peripeţiile bravului soldat Svejk”.

La data de 5 aprilie 2008, profesorul Veaceslav Carasievici s-a stins! A plecat, pe neştiute!

Vestea a îndurerat şi îndoliat atât lumea medicală şi academică, cât mai ales pacienţii încrezători şi loiali, cărora le-a fost alături zeci de ani şi care-l aşteptau încă la clinică.

Plecat din spaţiul imediat al sufletelor noastre, magistrul Veaceslav Carasievici, a cărui memorie va fi mereu binecuvântată, rămâne de-a pururi cu noi, prin modelul inconfundabil pe care l-a impus.

Dr. Corina Nacu

INSTRUCŢIUNI PENTRU AUTORI

Revista Medico-Chirurgicală a Societăţii de Medici şi Naturalişti din Iaşi publică articole originale (de cercetare fundamentală şi clinică), articole tip trecere în revistă (review) şi actualităţi (update), articole tip prezentare de caz, note clinice şi experimentale, recenzii, articole tip scrisoare către editor, informări asupra unor reuniuni ştiinţifice etc. în domeniul medicinii şi în domeniile conexe. Nu sunt acceptate materiale publicate sau în curs de publicare în alte reviste, cu excepţia lucrărilor publicate în rezumat.

Pentru **articolele originale** conţinutul trebuie structurat în următoarele secţiuni: INTRODUCERE, MATERIAL ŞI METODĂ, REZULTATE, DISCUŢII, CONCLUZII, MULŢUMIRI, BIBLIOGRAFIE.

Secţiunea Introducere (i) oferă suportul de informaţii care susţine, în baza literaturii de specialitate, subiectul vizat şi (ii) indică scopul pentru care a fost realizată cercetarea, subliniind elementele de noutate prin care se individualizează aceasta.

Secţiunea Material şi metodă include date precise, reproductibile şi verificabile, asupra materialul studiat, elementelor testate şi criteriilor de evaluare.

Secţiunea Rezultate prezintă, concis, datele obţinute (inclusiv sub formă de tabel sau figuri). În raport de scopul urmărit, acolo unde este cazul, rezultatele sunt validate printr-o prelucrare statistică adecvată. Textul acestei secţiuni va fi scris utilizând timpul trecut.

Secţiunea Discuţii urmăreşte interpretarea rezultatelor obţinute în cercetarea realizată, semnificaţia lor ştiinţifică fiind analizată în raport cu lucrările altor autori dedicate aceluiaşi subiect şi raportate în fluxul principal de publicaţii.

Secţiunea Concluzii subliniază aportul adus de cercetare în progresul cunoştinţelor în domeniu.

Secţiunea Mulţumiri include numele unor instituţii, organizaţii sau persoale care au contribuit decisiv în realizarea studiului.

Articole tip **trecere în revistă** (review) şi **actualităţi** (update) asupra unor subiecte de interes sunt în principal solicitate de editori, fiind însă luate în considerare, în sistem de peer-review, şi cele primite de la autori.

Pentru articolele tip **prezentare de caz**, conţinutul trebuie structurat în următoarele secţiuni: INTRODUCERE, PREZENTAREA CAZULUI, DISCUŢII.

PREGĂTIREA MANUSCRISULUI

Pregătirea manuscrisului se va face în conformitate cu instrucţiunile publicate în: Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals (1994) *Lancet* 1996; 348; V2; 1-4.

Textul va fi scris cu fonturi Times New Roman 12 pts. Revista foloseşte ortografia cu *â* şi *sunt*. Numerotarea paginilor se face în partea din dreapta jos.

Abrevierile nu trebuie utilizate excesiv şi trebuie explicate la prima apariţie în text.

Materialele nu vor depăşi: articole originale - 6 pagini/2500 cuvinte; articole tip trecere în revistă (review) şi actualităţi (update) - 8 pagini/3500 cuvinte; articole tip prezentare de caz - 4 pagini/1700 cuvinte; note clinice şi experimentale - 3 pagini/1300 cuvinte; recenzii, articole tip scrisoare către editor, informări asupra unor reuniuni ştiinţifice - o pagină/450 cuvinte. Revista îşi rezervă dreptul unor modificări impuse de tehnoredactare şi aranjare în pagină.

Manuscrisele respinse, ca urmare a deficienţelor de conţinut, nu se returnează.

Titlul şi autorii

Titlul trebuie să fie cât mai scurt şi elocvent pentru conţinutul manuscrisului. Titlul se va scrie cu litere de rând. Numele autorilor vor fi scrise cu litere de rând, prenumele precedând numele, pentru autori prescurtat, pentru autoare întreg. Afilierea va cuprinde instituţia (Universitate şi Facultate/Spital) şi compartimentul (Departament/Disciplină/Secţie) pentru fiecare autor. Autorii sunt obligaţi să menţioneze autorul desemnat pentru corespondenţă, cu datele de contact (e-mail şi telefon).

Rezumatul

Rezumatul va conţine:	**Recomandări speciale**
* Obiectivele clare ale studiului	* Extrageţi elementele principale din fiecare etapă a studiului pentru a fi expuse cât mai concentrat
* Descrierea materialului şi metodelor utilizate (concis şi clar)	În rezumat NU vor fi incluse: * tabele, figuri sau note bibliografice * informaţii care nu sunt prezentate în studiu * mai mult de 200 de cuvinte
* Rezultatele obţinute (cele mai importante, exprimate, dacă este posibil, numeric şi evaluate statistic)	
* Concluziile cele mai importante şi semnificaţia lor ştiinţifică	

Întrucât rezumatele în limba engleză au o circulaţie internaţională, redactarea lor trebuie să fie conform normelor internaţionale. Rezumatul va fi precedat de titlul articolului, tradus în limba engleză, scris cu majuscule, urmat de cuvântul (Abstract), conform următorului model:

NEUROLOGICAL MANIFESTATIONS IN COLAGEN DISEASES (Abstract) : Colagen disease are ... (urmează textul scris în continuare, fără aliniate). La sfârşitul rezumatului în limba engleză se vor menţiona obligatoriu, cu majuscule, cuvintele-cheie (3 până la 5), în conformitate cu INDEX MEDICUS şi MEDLINE.

Subtitlurile din cuprinsul articolului trebuie scrise cu litere capitale.

Figurile şi tabelele trebuie inserate echilibrat în text. Fiecare figură sau tabel trebuie să fie însoţite de titlu şi legendă.

Figurile, numerotate cu cifre arabe, vor avea o lăţime de 6,5 cm (pentru a se încadra pe o coloană) sau de 13,5 cm (pentru a se încadra pe ambele coloane) şi vor fi menţionate în text în paranteză cu caractere drepte (fig. 1). Figurile trebuie să îndeplinească următoarele condiţii :

- fotografii scanate la o rezoluţie de minim 300 dpi şi prelucrate ulterior pe calculator, fişier original (*.TIFF, *.JPG) ;
- imagini (desene, grafice) realizate pe calculator, menţionate în text, fişier original (*.XLS, *.CDR).

Titlul şi legenda figurilor vor fi scrise conform modelului :

Fig. 2. Rezultatele clonării moleculare

Tabelele, numerotate cu cifre romane, menţionate în text în paranteze (tab. III), vor fi inserate în text şi vor avea o lăţime de 6,5 cm sau de 13,5 cm, fără să depăşească lăţimea unei pagini. Titlul tabelului va fi poziţionat deasupra tabelului conform modelului :

TABELUL III

Date analitice comparative

Bibliografia

Referinţele bibliografice trebuie numerotate cu cifre arabe *în ordinea apariţiei în text* (deci *nu în ordine alfabetică*). Bibliografia va fi plasată la sfârşitul articolului şi va cuprinde numai referinţele citate în text (prin menţionarea în paranteză a numărului referinţei). Abrevierea titlurilor revistelor se va face conform Index Medicus.

Dacă un articol are maximum 6 autori vor fi transcrise toate numele. În cazul în care sunt 7 sau mai mulţi autori, se vor menţiona doar numele primilor 3 autori la care se adaugă abrevierea et al.

Sunt acceptate următoarele forme de scriere a bibliografiei :

Articole din reviste :

Amura SG. Neurotransmitter transportor : recent progress. *Ann Rev Neurosci* 1993 ; 16 : 73-93.

Tonis PJ, von Sandick JW, Nieweg OE et al. The hidden sentinel node in breast cancer. *Eur J Nucl Med* 2002 ; 29 : 305-311.

Cărţi :

Titlul unei cărţi :

Ashcroft FM. *Ion Channels and Disease.* San Diego, London : Academic Press, 2000.

Capitol dintr-o carte :

Pandiom MR, Fischer DA. Immunoradiometric assays. In : Scabes CG editor. *Handbook of Endocrine Research Techniques.* New York, London : Academic Press, 1993, 26-52.

Pentru alte situaţii se va consulta site-ul : *www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html*

TRIMITEREA MANUSCRISULUI

Manuscrisele, în dublu exemplar, tipărite pe foi A4, pe o singură faţă cu lăţimea paginii de 13,5 cm, vor fi depuse la Redacţia Revistei Medico-Chirurgicale sau trimise prin poştă pe adresa Societăţii de Medici şi Naturalişti Iaşi, însoţite de formatul electronic, pe dischetă sau CD-Rom, menţionându-se procesorul de text folosit (de preferinţă Word).

COPYRIGHT

Acceptarea articolului pentru publicare implică asumarea transferului dreptului de proprietate intelectuală al autorilor asupra revistei. Formularul pentru copyright va fi semnat de autorul desemnat pentru corespondenţă.

ÎN ATENŢIA AUTORILOR

Deoarece este necesară contribuţia materială a autorilor la cheltuielile de editare şi tipărire ale Revistei Medico-Chirurgicale, începând cu numărul 1/2008 se impun următoarele condiţii :

1. Membrii cotizanţi ai Societăţii de Medici şi Naturalişti Iaşi pot publica articole fără achitarea unei taxe.
2. Autorii care nu sunt membri cotizanţi ai Societăţii de Medici şi Naturalişti Iaşi vor achita o taxă de 50 RON în contul RO72RNCB0175033604340001, chitanţa fiind prezentată odată cu depunerea articolului.

Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr. T. Popa" Iaşi